

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

par

A. PAILLOT

Directeur de la Station entomologique du Sud-Est,
à Saint-Genis-Laval (Rhône).

~~1^{re} Thèse.~~ — LES MALADIES BACTÉRIENNES DES INSECTES.

Utilisation en Agriculture des Bactéries entomophytes.

~~2^e Thèse.~~ — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 23 Mars 1923 devant la Commission d'Examen

MM. CAULLERY..... *Président*

JOLEAUD..... }
BLARINGHEM..... } *Examineurs*

MAURICE-MENDEL --
Éditeur

rue Claude-Bernard, Paris V^e

SÉRIE A,

N°

917

1738

N° D'ORDRE

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

par

A. PAILLOT

Directeur de la Station entomologique du Sud-Est,
à Saint-Genis-Laval (Rhône).

1^{re} Thèse. — LES MALADIES BACTÉRIENNES DES INSECTES.

Utilisation en Agriculture des Bactéries entomophytes.

2^e Thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 23 Mars 1923 devant la Commission d'Examen

MM. CAULLERY..... *Président*

JOLEAUD.....
BLARINGHEM..... } *Examineurs*

— MAURICE-MENDEL —

Éditeur

58, rue Claude-Bernard, Paris V^e

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen..... MOLLIARD, *Professeur*, Physiologie végétale.

Doyen honoraire..... P. APPELL.

Professeurs honoraires.....
 P. PUISEUX.
 VÉLAIN.
 BOUSSINESQ.
 BOUTY.

Emile PICARD.....	Analyse supérieure et algèbre supérieure.
Gaston BONNIER.....	Botanique.
KENIGS.....	Mécanique physique et expérimentale.
GOURSAT.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
HALLER.....	Chimie organique.
JOANNIS.....	Chimie (Enseignement P. C. N.).
JANET.....	Electrotechnique générale.
WALLERANT.....	Minéralogie.
ANDOYER.....	Astronomie.
PAINLEVÉ.....	Mécanique analytique et mécanique céleste.
HAUG.....	Géologie.
H. LE CHATELIER.....	Chimie générale.
Gabriel BERTRAND.....	Chimie biologique.
M ^{me} P. CURIE.....	Physique générale et radioactivité.
CAULLERY.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
C. CHABRIÉ.....	Chimie appliquée.
G. URBAIN.....	Chimie minérale.
Emile BOREL.....	Calcul des probabilités et Physique mathém.
MARCHIS.....	Aviation.
Jean PERRIN.....	Chimie physique.
G. PRUVOT.....	Anatomie et physiologie comparée.
ABRAHAM.....	Physique.
CARTAN.....	Mécanique rationnelle.
Cl. GUICHARD.....	Géométrie supérieure.
LAPICQUE.....	Physiologie.
GENTIL.....	Géographie physique.
VESSIOT.....	Théorie des groupes et calcul des variations.
COTTON.....	Physique générale.
DRACH.....	Application de l'analyse à la géométrie.
C. FABRY.....	Physique.
Charles PÉREZ.....	Zoologie
Léon BERTRAND.....	Géologie appliquée et géologie régionale.
DANGEARD.....	Botanique (Enseignement P. C. N.).
LESPIEAU.....	Théories chimiques.
LEDUC.....	Physique théorique et physique céleste.
MONTÉL.....	Mathématiques générales.
MAURAIN.....	Physique du globe.

Professeurs.....

HÉROUARD.....	Zoologie.
Rémy PERRIER.....	Zoologie (Enseignement P. C. N.).
SAGNAC.....	Physique théorique et physique céleste.
RABAUD.....	Biologie expérimentale.
PORTIER.....	Physiologie.
BLAISE.....	Chimie organique.
PÉCHARD.....	Chimie (Enseignement P. C. N.).
AUGER.....	Chimie analytique.
M. GUICHARD.....	Chimie minérale.
GUILLET.....	Physique

Secrétaire..... Daniel TOMBECK.



LES MALADIES BACTÉRIENNES DES INSECTES

Utilisation en Agriculture des Bactéries Entomophytes

par A. PAILLOT

Directeur de la Station entomologique du Sud-Est, à Saint-Genis-Laval

INTRODUCTION

Le problème de la lutte contre les Insectes parasites des plantes a été considéré de tous temps, comme l'un des plus importants au point de vue économique, mais aussi, comme l'un des plus difficiles à résoudre. Au lendemain de la plus grande guerre qui ensanglanta l'humanité, il se pose avec plus d'acuité encore pour notre pays et l'on peut dire, sans exagération, que c'est une nécessité vitale pour nous de faire rendre à la terre plus qu'elle n'a rendu jusqu'ici.

La solution du problème a préoccupé, depuis longtemps, les Phytopathologistes de tous les pays et tous ceux qui s'intéressent à l'avenir de l'Agriculture. On l'a cherchée dans les directions les plus diverses, et tout d'abord, en mettant en œuvre les ressources inépuisables de la chimie; les résultats auxquels on est parvenu, sont des plus remarquables; de nombreux moyens de destruction sont devenus classiques et sont appliqués partout avec succès. Depuis quelques années, l'attention tend à se porter sur une autre méthode de lutte moins brutale, plus en rapport avec le progrès des sciences biologiques: c'est la méthode basée sur l'emploi rationnel des auxiliaires de tous ordres, c'est à dire, sur la dissémination artificielle des parasites naturels des Insectes nuisibles.

En ce qui concerne les auxiliaires animaux, et plus particulièrement les Insectes, les grandes lignes de la méthode ont été exposées par M. MARCHAL, en 1907 (1). Des résultats pratiques fort encourageants ont été obtenus: les exemples classiques du *Novius cardinalis* (Coccinelle parasite de l'*Icerya purchasi*) et de la *Prospaltella Berleseï*, (parasite de *Diaspis pentagona*, accli-

(1) Utilisation des Insectes auxiliaires entomophages dans la lutte contre les Insectes nuisibles à l'Agriculture. (*Ann. Inst. Agron.* 2^e série, VI, 1907)

On lira aussi avec intérêt les pages remarquables écrites par le même auteur, sur les méthodes biologiques, dans son mémoire sur « les Sciences biologiques appliquées à l'Agriculture aux Etats-Unis ». (*Ann. des Epiphyties*, III, 191.)

matée et multipliée en Italie par M. BERLESE), comptent parmi les plus frappants et les mieux connus. C'est en Amérique, que les méthodes biologiques ont fait l'objet des recherches les plus étendues et les plus remarquables; c'est là, d'ailleurs, qu'elles devaient avoir le plus de chances d'aboutir, en raison de l'abondance relative des Insectes nuisibles d'importation récente. Les quelques résultats positifs enregistrés autorisent les plus belles espérances et justifient les recherches nouvelles qu'on peut faire dans cette direction.

L'utilisation rationnelle des organismes inférieurs entomophytes a été tentée aussi, mais sur une moins grande échelle. Les résultats qu'on a obtenus jusqu'ici, sont des plus contradictoires; il suffit de se reporter au travail que nous avons publié en 1913, sur l'utilisation en Agriculture des microorganismes parasites des Insectes, pour avoir une idée de la confusion qui régnait alors dans les idées, au sujet de la valeur pratique de cette méthode de lutte. A la suite des révélations de la Bactériologie, on avait cru qu'il était possible de créer à volonté des épidémies artificielles parmi les Insectes, étant donnée la prodigieuse puissance de multiplication des organismes inférieurs; l'insuccès a été la règle et on a discrédité la méthode avec autant d'ardeur qu'on l'avait vantée.

Il convient d'en reprendre l'étude, mais sur d'autres bases plus rationnelles et partant, plus solides; c'est ce que nous nous sommes proposé, en premier lieu, en commençant nos recherches sur l'étude des maladies microbiennes des Insectes. L'idée de ce travail nous a été suggérée par M. le professeur P. MARCHAL; nous sommes heureux de pouvoir lui témoigner ici toute notre reconnaissance pour les bons conseils et pour les encouragements qu'il n'a cessé de nous prodiguer au cours de nos recherches. Sa connaissance approfondie des méthodes biologiques, et, par-dessus tout, sa grande bienveillance, nous ont permis de mener à bonne fin ce travail commencé depuis l'année 1913. Nous le lui dédions en hommage de notre profonde gratitude.

Nous adressons aussi l'hommage de notre plus vive reconnaissance à M. BOUVIER, professeur au Muséum national d'Histoire naturelle, auquel nous sommes entièrement redevable de la fonction que nous remplissons. Ses encouragements nous ont été d'un précieux secours.

Nous remercions nos maîtres de l'Institut Pasteur, en particulier: MM. les professeurs BORREL, MESNIL et NICOLLE, pour l'amabilité avec laquelle ils ont bien voulu nous accueillir dans leurs laboratoires, et pour les bons conseils qu'ils nous ont donnés.

Nous rendons hommage à la mémoire du Professeur Jules COURMONT, Directeur de l'Institut bactériologique de Lyon, adjoint technique à la Direction du Service de Santé de la XIV^e Région pendant la guerre, pour l'intérêt qu'il a bien voulu nous témoigner en nous accueillant à l'Institut bactériologique au cours d'un traitement à l'hôpital, et nous permettant de travailler au Laboratoire central militaire. C'est là que nous avons pu reprendre nos études sur les microbes entomophytes, études commencées à l'Institut Pasteur de Paris et interrompues par la guerre. Nos recherches ont continué dans le laboratoire de la Station

entomologique du Sud-Est, installé à Saint-Genis-Laval dès 1917, grâce à la bienveillance de M. Roux, Directeur de l'Institut des Recherches agronomiques, grâce aussi à la générosité du Conseil général du Rhône, qui a bien voulu nous accorder une subvention annuelle.

PLAN D'ÉTUDES ET CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES. — TECHNIQUE DES RECHERCHES

Le nombre des travaux consacrés à l'étude des maladies infectieuses, chez les Insectes, paraît bien insignifiant si on le compare, par exemple, à celui des travaux relatifs aux maladies similaires de l'Homme et des Vertébrés supérieurs. Le sujet n'a d'ailleurs été effleuré que par un petit nombre d'auteurs, et cependant, qui oserait affirmer qu'il ne fût pas digne de retenir l'attention des chercheurs ?

Nous avons déjà dit que l'étude méthodique des parasites microbiens des Insectes était indispensable pour la mise en œuvre des immenses ressources de la méthode biologique dans la lutte contre les Insectes. Cette étude constitue, peut-on dire, le but primordial de nos recherches, celui dont la poursuite pouvait donner des résultats pratiques immédiats. Mais on peut envisager d'un autre point de vue moins étroit, plus élevé, la question des maladies microbiennes des Insectes : on peut la considérer, par exemple, comme une branche de la pathologie générale et l'étudier suivant les méthodes de cette science. C'est la conception de l'éminent professeur de Pathologie comparée, ROGER, ainsi qu'il ressort de son discours inaugural au premier Congrès international de Pathologie comparée, tenu à Paris en 1912. « Pour édifier une véritable pathologie générale, disait-il, il faut envisager les troubles morbides dans toute la série des êtres vivants, en commençant par les inférieurs, Protozoaires et Protophytes, pour s'élever progressivement jusqu'aux Mammifères et aboutir à l'Homme. »

Il serait vain de notre part, n'étant pas rompu aux méthodes de la Pathologie humaine ou vétérinaire, de vouloir suivre le professeur ROGER dans ses déductions et de traiter le sujet que nous abordons ici, dans le pur esprit de la pathologie générale. Nous le traiterons donc en bactériologiste, mais en nous inspirant des méthodes de la Biologie et de la Physiologie. Il est incontestable que, jusqu'ici, la Bactériologie a été surtout une science médicale et vétérinaire ; pour rappeler un mot de DUCLAUX, on a surtout regardé cette science par « les fenêtres de la Médecine ». Or, si l'on connaît assez bien les parasites microbiens de l'Homme et des animaux domestiques, en revanche, ceux des Invertébrés nous sont à peu près totalement inconnus ; et surtout nous ignorons à peu près tout des réactions, provoquées dans les tissus et les organes par ces parasites. Nous ne prétendons pas combler à nous seul cette importante lacune ; la vie d'un homme ne suffirait pas à une aussi vaste tâche ; nous n'avons que la modeste ambition de souligner l'importance de l'œuvre à accomplir, et de démontrer la

nécessité d'une étude complète et méthodique des parasites microbiens dans la série animale, en donnant comme preuves, les résultats obtenus à la suite de l'étude de quelques-uns d'entre eux, dans un groupe très limité d'Invertébrés.

Le travail que nous présentons ici, est donc, en quelque sorte, une introduction à une étude de plus grande envergure, mais une introduction qui renfermerait les premiers jalons de cette étude et dont les cadres pourront servir aux recherches ultérieures.

Dans le chapitre premier, nous étudierons la description et la systématique des espèces microbiennes que nous avons isolées d'Insectes nuisibles, au cours de nos dernières années de recherches. Ces espèces ne constituent évidemment qu'une minime partie des parasites microbiens ordinaires des Insectes étudiés, mais notre but est moins de dresser la liste complète de ces parasites que d'établir des bases de classification.

Dans le chapitre II, nous traiterons de l'infection chez les Insectes et de l'utilisation pratique des germes pathogènes, dans la lutte contre les Insectes nuisibles à l'Agriculture.

Dans le chapitre III, nous étudierons l'immunité chez les Insectes et ferons le parallèle entre les réactions de défense observées chez ces Invertébrés, et les réactions similaires qu'on observe chez les Vertébrés supérieurs.

Technique des recherches.

I. — *Isolement des microbes.*

Après examen à l'état frais et après coloration du sang suspect, nous ensemençons trois tubes de gélose inclinée, sans recharger la spatule de platine. Le sang est prélevé aseptiquement au moyen d'une pipette finement étirée, en piquant l'extrémité, dans une des fausses-pattes abdominales, s'il s'agit de chenilles, entre deux anneaux abdominaux (partie ventrale), s'il s'agit d'autres Insectes. Les colonies du troisième tube, ou du deuxième, si le sang est peu infecté, sont bien isolées les unes des autres et présentent généralement toutes le même aspect; l'une d'elles sert à ensemencer deux tubes de gélose dont l'un est conservé comme échantillon et l'autre sert de souche pour l'étude des propriétés biochimiques du microbe sur les différents milieux de culture. Dans le cas où les colonies isolées n'ont pas toutes le même aspect, ce qui est l'indice d'une infection multiple ou d'une infection simple compliquée d'infection secondaire, on isole, en tubes différents, les colonies les plus caractéristiques, en conservant les tubes originaux pour mesurer la valeur respective de chacune des infections simples.

II. — *Etude des propriétés biochimiques.*

Cette étude est faite suivant les procédés classiques et d'après le plan proposé par GRIMBERT.

III. — *Etude de l'infection et des réactions d'immunité.*

L'inoculation des microbes est faite dans la cavité générale ; on prépare l'émulsion microbienne, en délayant une parcelle d'une culture pure sur gélose, dans un peu d'eau physiologique. L'émulsion est poussée dans la cavité générale au moyen d'une pipette à effilure extrêmement fine ; s'il s'agit de chenilles, on fait pénétrer l'extrémité de la pipette dans la paroi d'une fausse-patte abdominale, en ayant soin de piquer la peau normalement et d'un coup sec ; on évite par là l'hémorragie qui se produit à coup sûr lorsque la peau est déchirée. Malgré ces précautions, et suivant l'espèce de chenille inoculée, cet accident arrive fréquemment : ainsi, les chenilles de *Vanessa urticae* L. comptent parmi les plus difficiles à inoculer, alors que celles d'*Agrotis segetum* Schiff. ont une peau qui se déchire rarement et conviennent très bien comme matériel d'expériences. S'il s'agit d'Insectes autres que les chenilles, des Coléoptères par exemple, on pousse l'injection entre deux anneaux abdominaux, en ayant soin d'incliner fortement l'aiguille par rapport au corps de l'Insecte, afin de ne pas léser les organes internes.

L'étude des réactions d'immunité dans le sang est faite principalement sur frottis colorés. On prépare des lames très propres dont la surface est parfaitement dépouillée de matière grasse ; on dépose, sur ces lames, une goutte de sang, prélevée au moyen de la pipette et on l'étale en couche mince, au moyen de la partie effilée, droite, de la pipette elle-même. On laisse dessécher les frottis ou on les fixe avant dessiccation.

Frottis secs. — Après dessiccation, on fixe au moyen de l'alcool méthylique absolu, puis on colore avec les colorants de Giemsa, de Hollande (qui a beaucoup d'analogie avec le précédent) ou de Tribondeau. Ces mélanges colorants donnent de très bonnes différenciations, mais, en ce qui concerne particulièrement les deux premiers, il est nécessaire, pour réussir, d'observer un certain nombre de prescriptions. Le mélange doit être fait dans un tube au moment de l'emploi à raison d'une goutte de colorant pour 1 cm. c. d'eau distillée neutre ; le mélange est assuré par un mouvement rapide du tube entre les deux mains, en évitant les secousses trop brusques ; le frottis fixé est renversé sur le fond d'une boîte de verre ; on interpose, entre ce fond et la lame, un fragment de tube de verre aminci par étirement ; le mélange colorant est ensuite versé dans la boîte. A la température de 25 à 30°, la coloration est plus rapide et la différenciation, mieux assurée qu'à basse température ; on peut retirer la lame au bout de 30 minutes environ ; laver et sécher ; il n'est pas utile de conserver au baume.

Frottis humides. — Aussitôt après l'étalement, avant dessiccation complète, on fixe les éléments vivants du frottis, avec les mélanges fixateurs ordinaires (Brasil, Lenhossek, Flemming), puis on colore comme les coupes. Il reste suffisamment d'éléments cellulaires et de microbes sur les frottis ainsi fixés, sans qu'il soit nécessaire de collodionner au préalable.

La coloration des microbes, des spores, capsules et cils a été faite suivant les méthodes classiques exposées dans tous les traités.

L'étude histologique des chenilles en état d'infection a été faite après fixation au liquide de Brasil, qui pénètre beaucoup mieux que le mélange de Bouin. Les chenilles, maintenues en extension sur une plaque de liège par le moyen de deux épingles plantées, l'une en tête, l'autre en queue, sont ouvertes sur toute leur longueur, ventralement ou dorsalement ; on renverse ensuite la plaque de liège avec la chenille en bas sur le mélange fixateur renfermé dans une boîte de verre. Après 24 heures, la fixation est suffisante ; laver, déshydrater et inclure ; coloration par les méthodes ordinaires.

CHAPITRE PREMIER

ÉTUDE SYSTÉMATIQUE DE QUELQUES MICROBES ENTOMOPHYTES

Le nombre des microbes entomophytes actuellement connus, est réduit à quelques espèces seulement. Les auteurs qui les ont étudiées, n'en n'ont d'ailleurs donné, en général, qu'une diagnose très insuffisante ; bien souvent, on est dans l'impossibilité de déterminer les espèces isolées d'un Insecte particulier, avec celles déjà décrites. Cette difficulté d'identification n'est pas spéciale aux microbes entomophytes : elle se présente à peu près chaque fois qu'il s'agit de déterminer un microbe nouveau, tout au moins un de ceux qu'on peut avoir l'occasion de rencontrer en dehors du corps de l'homme ou des animaux domestiques.

Il y a plus de 20 ans, GRIMBERT s'élevait déjà contre la manque de bases précises dans l'évaluation des caractères spécifiques des microbes. « La plupart des traités qui s'occupent du diagnostic des bactéries — écrivait-il en 1908 (1) — ne sont que des catalogues où celles-ci viennent se ranger par ordre alphabétique, sous le nom que leur a imposé le bactériologiste qui les a découvertes ou qui a cru les découvrir. La description de leurs caractères, ne suivant aucun plan arrêté, offre les variations les plus déconcertantes. Tantôt l'auteur s'attache à la morphologie, qu'il décrit avec complaisance, laissant dans l'ombre certaines particularités biologiques qu'il eût été intéressant de connaître. Tantôt, l'aspect des cultures retient seule son attention ; il note avec force détails les nuances les plus fugitives d'un tube de bouillon qui se trouble ; il nous fait assister par toutes les phases par où passe une colonie sur gélatine en voie de liquéfaction, mais sans nous dire jamais si le Bacille en question attaque l'albumine ou les hydrates de carbone. »

En conclusion de ses critiques, GRIMBERT souhaite « voir une entente s'établir entre tous les bactériologistes pour adopter une marche méthodique unique dans la description des bactéries, en ayant soin de bien spécifier les conditions des expériences ». L'entente s'est-elle faite ? ce n'est pas notre rôle ici

(1) GRIMBERT : Diagnostic des Bactéries par leurs fonctions biochimiques. Thèse, Paris, 1908.

d'entrer en discussion à ce sujet ; cependant, en ce qui concerne les microbes entomophytes, nous devons reconnaître que le désir de GRIMBERT ne s'est pas réalisé.

La nomenclature adoptée généralement par les auteurs qui ont décrit des microbes entomophytes, est très simple : le nom spécifique du microbe est constitué par le nom générique ou spécifique de l'Insecte-hôte, le nom générique étant constitué d'après la forme du microbe (*Bacillus*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, etc.) ; exemples : *Bacillus acridiorum* d'Herelle, *Micrococcus bombycis* Cohn. La règle serait bonne, si les espèces microbiennes parasites d'un même Insecte, étaient en nombre très limité ; or, tel n'est pas le cas ; il semble même que la flore microbienne des Insectes ne le cède en rien, pour la richesse et la variété, à celle des Vertébrés supérieurs. La règle adoptée n'a donc plus de raison d'être ; mais alors, quelle règle suivre ?

En l'état actuel de nos connaissances, aucune réponse précise ne peut être faite à cette question ; en effet, la systématique, au sens où on l'entend en Botanique ou en Zoologie, est à peu près inexistante en Bactériologie ; la notion d'espèce, base de toute classification, n'a pas encore de signification précise lorsqu'il s'agit de microbes. On reconnaît qu'il existe des types bien caractéristiques autour desquels viennent se ranger un nombre plus ou moins considérable de races ou variétés ; on constitue ainsi des familles dont les limites sont très imprécises et qui varient d'ailleurs suivant les auteurs. On peut citer comme exemples : les groupes du Bacille typhique, du *Bacillus enteritidis* (auquel appartiennent la plupart des espèces pathogènes pour les Mulots et les Campagnols), les Corynébactéries, etc. Ces familles ne sont nullement comparables aux groupes similaires constitués chez les êtres mieux organisés, car les caractères sur lesquels on se base pour établir des rapprochements, sont plus ou moins constants. D'ailleurs, beaucoup d'auteurs admettent qu'un type déterminé de microbe peut évoluer, et cette continuelle évolution constitue, pour eux, un caractère essentiel des microbes en général (nous en citerons des exemples typiques dans la suite de ce travail) ; l'absence de véritables caractères dominants, et surtout, le manque de données d'ensemble sur les microbes rencontrés dans les différents milieux, vivants ou non, sont autant de raisons qui expliquent l'insuffisance de la systématique en Bactériologie.

La classification et la nomenclature que nous adopterons dans ce travail, ne doivent pas être considérées comme définitives : elles sont, en effet, susceptibles d'être révisées, soit que l'adoption d'une règle générale nous y contraigne, soit plutôt, que la découverte de nombreuses espèces nouvelles, ou simplement, de criterium spécifiques nouveaux, nécessitent cette révision.

HISTORIQUE

Nous ne pouvons entrer dans le détail de la bibliographie concernant les maladies microbiennes des Insectes utiles : Abeilles et Vers-à-soie ; ces travaux sont, en effet, assez considérables, mais leurs auteurs avaient en vue la guérison

des infections, c'est-à-dire, un but opposé à celui que nous poursuivons. Nous ne dirons que quelques mots des plus importants et résumerons sommairement, les connaissances actuelles sur les principales maladies épidémiques de nature bactérienne qui affectent les Abeilles et le Ver à soie.

La *Flacherie* est une des premières maladies infectieuses qui aient été étudiées chez les Insectes. Elle a fait de grands ravages parmi les élevages de Vers-à-soie du sud de la France, vers l'année 1867 et PASTEUR lui consacra un travail important publié en 1870. D'après PASTEUR, la maladie aurait pour cause, la présence dans l'intestin, de nombreux germes organisés, notamment de ferments en chapelets. Dès 1867, BÉCHAMP disait avoir trouvé des molécules mobiles, des Microzymas, qu'il voyait fourmiller à la surface des vers malades de Flacherie, dans leurs tissus et dans leurs œufs; mais comme le fait remarquer PASTEUR, il n'est nullement prouvé que les Microzymas de BÉCHAMP soient identiques aux ferments en chapelets. Ces ferments ont été décrits par COHN, sous le nom de *Micrococcus bombycis*. Il n'apparaît pas, cependant, que ce microbe dût être considéré comme l'agent véritable de la Flacherie. Des travaux récents sur une maladie analogue, observée chez diverses espèces de chenilles autres que celles du Ver à soie, tendraient à prouver que la Flacherie serait causée par un virus filtrant. C'est l'opinion actuelle de GLÄSER sur la « Wilt Disease » ou Flacherie des chenilles de *Lymantria (Porthetria) dispar* L. Par contre, pour FISCHER, les causes de la maladie qu'il a étudiée, et qu'il identifie à tort, croyons-nous, avec la « Wipfelkrankheit », seraient plutôt de nature physico-chimique; les causes prédisposantes seraient capitales dans l'éclosion de la Flacherie.

La Loque des Abeilles a donné lieu à un grand nombre de travaux dans le détail desquels nous n'entrerons pas. Les Américains considèrent deux formes de Loque : la Loque américaine ou « American foul Brood », causée par *Bacillus larvae* White, et la Loque européenne ou « European foul Brood »; causée par *B. pluton* White. Les Allemands, avec ZANDER, considèrent trois formes de Loque : « die Sauerbrut », causée par *Streptococcus apis*; « die Faulbrut », par *B. alvei* (souvent associé avec *S. apis*), et « die Brutpest », causée par *B. larvae* (= *brandenburgensis*). La conclusion qui se dégage des travaux concernant la Loque, est que cette maladie ne semble pas exister en tant qu'entité morbide. Il est probable qu'on groupe sous ce nom, un ensemble de maladies à caractères généraux communs (d'une manière générale, les maladies bactériennes des Insectes ont beaucoup de caractères communs, bien que les causes soient très différentes) mais déterminées cependant par des espèces microbiennes différentes. Cette conclusion est celle-même qui se dégage de nos recherches personnelles sur les maladies bactériennes des Insectes nuisibles.

Les travaux relatifs à ces maladies, en vue de l'utilisation des microbes en Agriculture, sont relativement peu nombreux. On peut distinguer deux périodes : la première, qui s'étend jusqu'à 1911, l'autre, à partir de cette date jusqu'à nos jours.

Première période : Dès 1879, METCHNIKOF, en étudiant la « Muscardine

verte » des larves d'*Anisoplia austriaca* Hbst., avait montré que beaucoup de ces larves mouraient à la suite d'une infection bactérienne causée par *Bacillus salutaris* ; mais il ne fit pas une étude approfondie de la maladie et n'envisagea pas son utilisation, dans la pratique de la lutte contre les larves d'*Anisoplia*. Vers la même époque, FORBES signalait, dans l'Illinois, l'existence d'une maladie du « Chinch bug » (*Blissus leucopterus* Say.) causée par un *Micrococcus* ; comme l'auteur précédent, FORBES se contenta de fournir l'indication de la maladie, mais sans donner de détails particuliers sur son évolution, ni sur le microbe lui-même.

Enfin en 1894, KRASSILSTCHIK publiait un travail assez complet sur deux maladies bactériennes des Vers blancs : l'une, la Graphyrose, caractérisée par le fait que le corps des larves, au moment de la mort, est comme frotté à la mine de plomb ; l'autre, la Septicémie, caractérisée par la nuance brun plus ou moins foncée de la peau. La première est causée par un court Bacille mobile, sporulé : *Bacillus tracheitis sive graphitosis* Krass., la deuxième, par *Bacillus septicus insectorum* Krass. Nous ne pouvons critiquer les faits établis par KRASSILSTCHICK, car nous n'avons pas eu l'occasion d'observer et d'étudier les infections qu'il signale sur les Vers blancs ; nous ferons toutefois remarquer que la septicémie n'est pas une forme de maladie caractéristique, la plupart des maladies infectieuses affectant cette forme chez les Insectes. Nous ferons aussi observer que le corps des larves ou chenilles noircit en général après la mort, quelle qu'en soit la cause. Nous aurons à revenir sur quelques-unes des conclusions de KRASSILSTCHICK, en étudiant l'infection (Chap. II).

2^e période. — Elle débute avec la première publication de d'HÉRELLE sur un Coccobacille des Criquets du Mexique (*Schistocerca pallens* Scud.), isolé au cours d'une épidémie naturelle, et capable d'infecter *per os* ces Insectes, provoquant ainsi la création de véritables épidémies artificielles parmi les colonies de Criquets. Les résultats obtenus par l'auteur, au Mexique, en Argentine, en Tunisie, auraient été confirmés par un certain nombre d'expérimentateurs, en diverses parties du monde ; nous reviendrons sur ces expériences au cours du chapitre II. Le *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle a été bien décrit par cet auteur, et la diagnose qu'il en donne peut servir pour les déterminations futures. Ce n'est pas le seul Coccobacille susceptible de créer des épidémies parmi les Criquets ; un certain nombre d'expérimentateurs, en particulier : ET. SERGENT, en Algérie, VELU et BOUIN, au Maroc, ont signalé l'existence d'épidémies naturelles autochtones, causées par des Coccobacilles du même groupe que celui de d'HÉRELLE. Mais aucune étude systématique de ces microbes n'ayant été faite, il est difficile de savoir si l'on a affaire à de simples races du *C. acridiorum*. Si nous nous reportons aux résultats de nos recherches propres sur les maladies bactériennes du Hanneton commun ou du *Lymantria dispar* L., nous croyons qu'il y a lieu de les considérer, au moins en partie, comme des espèces véritables. au même titre que le Coccobacille typique de d'HÉRELLE. Nous avons souvent constaté que des Coccobacilles de forme à peu près identique, différaient plus entre eux par leurs propriétés biochimiques ou leur action pathogène vis-à-vis

certaines Insectes, que d'autres microbes de forme toute différente. A notre avis, les critères morphologique et biochimique ne sont pas suffisants pour caractériser les espèces bactériennes; ils doivent être complétés par un autre de grande valeur différentielle : l'action parasitaire sur Insectes vivants. Les microbes entomophytes étant avant tout des parasites d'Insectes, il est naturel de rechercher dans le parasitisme les caractères dominants de chacun.

Les publications de d'HÉRELLE ont servi de point de départ à une série de recherches sur les parasites microbiens des Insectes, en particulier, sur les Coccobacilles. Ainsi, CHATTON en étudiant l'action pathogène du *C. acridiorum* sur le Hanneton commun, a pu observer qu'un certain nombre d'individus provenant d'Auvergne et du Jura, mouraient spontanément avant toute inoculation; la cause de cette épidémie naturelle était due à la présence, dans la cavité générale et dans l'intestin, d'un Coccobacille très voisin, morphologiquement, de celui des Criquets. CHATTON a décrit très sommairement ce parasite, qu'il a nommé *B. melolonthae*. Ce même auteur a observé et étudié, une « Coccobacillose » des Vers à soie, causée par un autre Coccobacille, le *Bacillus bombycis*. PICARD et BLANC ont étudié de même une « Coccobacillose » des chenilles de *Lymantria dispar* et de *Chelonia caja* L. et décrit : *Bacillus lymantriae* et *B. cajae*. Nous-même avons isolé, de chenilles de *Gortyna ochracea* Hb. et *Pyrameis cardui* L., des Coccobacilles auxquels nous avons donné les noms de *B. gortynae* et *B. pyrameis* I et II.

En outre des Coccobacillosies, on a décrit, plus récemment, des infections causées par des microbes très différents des Coccobacilles. NORTHRUP, en 1914, isolait de larves de *Lachnosterna* spp. malades, un *Micrococcus* pathogène pour ces larves : *Micrococcus nigrofaciens*, colorable par la méthode de GRAM. Ce Microcoque se rapprocherait donc des Staphylocoques. Les caractéristiques de la maladie qu'il provoque, seraient les mêmes, d'après l'auteur, que celles observées en 1893, par KRASSILTSCHICK, en Russie. Une autre espèce de Microcoque voisine de celle de NORTHRUP, mais dont les éléments restent généralement accolés les uns aux autres pour former des chaînettes plus ou moins longues, a été découverte par GLASER, en 1918, dans le corps de chenilles de *Lymantria dispar* provenant d'œufs envoyés du Japon. Cette espèce, que GLASER a nommée *Streptococcus disparis*, serait capable, dans certaines conditions, de provoquer la création d'épidémies artificielles. DUFRENOY, en 1918, étudiant les maladies microbiennes des chenilles processionnaires du Pin (*Cnethocampa pityocampa* Schiff.), a décrit trois groupes de Bactériacées : *Bacterium pityocampae*, non colorable par la méthode de GRAM, encapsulé; *Streptococcus pityocampae* α , colorable par la méthode de GRAM et formé d'éléments assemblés en chaînettes mobiles; *Streptococcus pityocampae* β , non colorable par la méthode de GRAM. Nous nous étonnons que DUFRENOY ait cru devoir donner le même nom générique à ces deux dernières espèces, alors que leurs caractères sont très différents; il y a lieu de s'étonner aussi que la première espèce, formée de chaînettes mobiles, soit considérée comme un Streptocoque, alors que cette dernière espèce est dépourvue de toute mobilité. Ces

derniers exemples montrent assez quelle confusion règne encore maintenant dans la systématique des Microbes.

La conclusion, qui nous paraît se dégager des travaux relatifs aux Coccobacilles d'Insectes, est que ces microbes sont considérés comme formant un groupe assez homogène, dont chaque type particulier représenterait un parasite déterminé d'une espèce d'Insecte. HOLLANDE et VERNIER, à propos d'une communication qu'ils ont faite en 1920 sur un Bacille pathogène du sang des chenilles de *Malacosoma castrensis* L., ont même cru devoir considérer les Coccobacilles d'Insectes, comme de simples variétés d'un type commun : le *Bacillus insectorum*, qui serait caractérisé par les propriétés suivantes : Bacilles plus ou moins mobiles, ayant une forme courte, plus allongée dans le sang de l'Insecte qu'en culture, à corps se colorant plus fortement aux deux extrémités ; réaction GRAM négative ; production plus ou moins accentuée d'un pigment vert fluorescent sur bouillon en présence de l'air ; liquéfaction de la gélatine et protéolyse du sérum de cheval gélifié ; l'action diastasique sur les sucres et la virulence pour tel ou tel Insecte pouvant varier suivant les races étudiées ». Nous verrons, après l'exposé des résultats de nos recherches personnelles, combien la conception de HOLLANDE et VERNIER s'éloigne de la vérité.

En dehors des infections simples ordinaires, caractérisées par la présence dans le sang des Insectes contaminés d'une seule variété de microbes pathogènes, il existe assez souvent des infections de type complexe, caractérisées par la superposition d'une ou plusieurs infections secondaires à une infection principale. Quelques auteurs, parmi lesquels PINOY et TRUCHE, avaient attiré l'attention sur ces infections secondaires, dès l'année 1913. C'est ainsi que PINOY, dans le sang de Vers à soie atteint de « Coccobacillose », et TRUCHE, dans celui de chenilles de *Gortyna ochracea* Hb. infectées par *B. gortynae*, ont isolé chacun un *Coccus* colorable par la méthode de GRAM et qu'ils considèrent comme des Pneumocoques, au sens large du mot. Nous avons eu l'occasion d'étudier chacune de ces deux espèces au point de vue de leur action pathogène sur les chenilles de *Cnethocampa pityocampa* et sur les adultes d'*Hallica ampelophaga* Guér., mais nos recherches sont trop superficielles pour qu'il y ait lieu d'en faire état dans ce travail.

PARASITES MICROBIENS DU HANNETON VULGAIRE

(*Melolontha melolontha* L.)

Nos premières observations sur les parasites microbiens du Hanneton vulgaire datent de 1916, année caractérisée par une formidable invasion dans la région lyonnaise. Nous nous sommes proposé, en premier lieu, d'étudier l'importance du rôle joué par les auxiliaires microbiens dans la destruction naturelle des Hannetons, au cours de l'invasion ; puis, de rechercher si les causes naturelles de mortalité sont dues à l'action pathogène d'un grand nombre d'espèces bactériennes, Coccobacilles ou autres, ou seulement de quelques-unes d'un type bien défini ; enfin de déterminer le rôle de chacune d'elles.

A la date du 1^{er} mai, début de l'invasion, nous observons sur place, le sang de plusieurs centaines de Hannetons récoltés dans les bois et sur les haies du plateau de Sathonay-Rillieux (banlieue Nord de Lyon). L'observation macroscopique est faite de la façon suivante : l'Insecte est saisi par le dos, entre le pouce et l'index de la main gauche ; puis nous faisons pénétrer, dans la membrane qui sépare deux anneaux abdominaux, une pipette finement étirée dirigée obliquement par rapport au corps. La pression interne suffit à faire pénétrer un peu de sang dans la pipette. L'examen macroscopique porte sur la limpidité du sang et sur la propriété, qu'il possède, de coaguler instantanément au contact de l'air, lorsqu'il est normal (il suffit, pour s'en rendre compte, de faire tomber la goutte de sang de la pipette, sur l'ongle, par exemple) ; lorsque le sang est infecté, il est plus ou moins trouble et ne coagule pas au contact de l'air.

Sur tous les Hannetons ainsi examinés, aucun n'a présenté les signes caractéristiques de l'infection. Notre observation est corroborée par l'absence de Hannetons morts, au pied des arbres ou des buissons les plus chargés d'insectes. Pour compléter nos observations, nous avons mis en observation, au laboratoire, une quantité à peu près équivalente de Hannetons récoltés dans la même région. Un seul d'entre eux mourait trois jours après, et son sang présentait le trouble caractéristique de l'infection. L'examen microscopique des frottis colorés et l'ensemencement en tube de gélose inclinée, nous ont montré que l'infection était causée par un seul Coccobacille très mobile, que nous avons décrit sous le n° 1.

Le 8 mai, nous recommençons, dans la même région, les observations faites 8 jours auparavant, mais sans plus de succès. Ces observations sont complétées par l'examen microscopique, en séries, de plusieurs centaines de Hannetons. Nous avons procédé de la manière suivante : douze Hannetons sont mis à part pour chaque série d'observation ; avec une pipette, nous prélevons une goutte de sang dans la cavité générale de chacun et nous l'étalons aussitôt sur une lame de verre dont la surface a été divisée en douze cases au moyen d'un crayon gras à verre. Les insectes examinés sont ensuite placés dans des tubes à essais, d'où ils ne peuvent sortir et où ils conservent leur place respective, correspondant à leur numéro d'ordre sur la lame. Aucun des Hannetons ainsi examinés n'a présenté de trace d'infection.

Le 7 mai, nous trouvons, fortuitement, sur le chemin de Francheville à Sainte-Foy (banlieue S-O. de Lyon), un Hanneton malade dont le sang présente le trouble caractéristique des infections micobiennes. Le microbe isolé, différent du Coccobacille isolé précédemment, est décrit sous le n° 4.

Le 27 mai, nous trouvons à Lyon même, au Parc de la Tête d'Or, deux Hannetons en état d'infection ; le microbe isolé du sang de chacun, est à peu près identique à l'espèce isolée, le 8 mai, d'un Hanneton de Rillieux et décrite sous le n° 1.

Le 31 mai, nous recommençons, à Rillieux, la série des observations faites les 1^{er} et 8 mai. Sur 200 Hannetons examinés macroscopiquement, nous en trouvons quatre en état d'infection. L'examen microscopique et l'ensemencement

en tubes de gélose inclinée nous ont donné les résultats suivants : une infection simple, causée par le Coccobacille n° 1 ; trois infections, causées par des associations microbiennes : la première, formée, d'un Coccobacille différent du précédent et d'un Diplocoque à éléments colorables par la méthode de GRAM ; la deuxième, du Coccobacille n° 1 et d'un Diplobacille colorable par la méthode de GRAM ; la troisième, du même Coccobacille et d'un Bacille sporulé.

Le 5 juin, nous examinons microscopiquement, de la manière indiquée plus haut, une nouvelle série de 200 Hannetons provenant du Plateau de Sathonay-Rillieux : six seulement, soit 30 p. 1.000 du total, sont en état d'infection. Quatre des infections sont simples et ont pour cause le Coccobacille n° 1 ; des deux autres, une simple est causée par le Coccobacille n° 5 ; l'autre, compliquée d'infections secondaires, a pour cause le Coccobacille précédent ; le Diplocoque et le Diplobacille cités plus haut, ce dernier, en proportion relativement importante, déterminent les infections secondaires.

Nous avons eu l'occasion d'étudier, la même année, les parasites microbiens d'un lot de Hannetons provenant des Plateaux jurassiens (Lemuy). Sur ce lot de 200 Hannetons, nous n'avons trouvé que trois individus infectés : deux, par le Coccobacille n° 1, le troisième par un Coccobacille très différent de tous ceux isolés dans la région lyonnaise ; il est décrit sous le n° 6.

En 1917 et 1918, le manque de Hannetons ne nous a pas permis de continuer nos observations sur la parasitologie microbienne de cet Insecte dans la région lyonnaise. Mais en juin 1917, nous avons eu l'occasion d'étudier un lot assez important de Hannetons provenant de la Touraine où l'invasion, cette année, était très importante. Bien que les Hannetons eussent voyagé dans de mauvaises conditions, que la cohabitation dans une boîte mal aérée et de dimensions insuffisantes pour le nombre des captifs, eût dû favoriser le développement des maladies infectieuses, la mortalité causée par les parasites microbiens ne fut pas sensiblement plus élevée que celle observée l'année précédente à Lyon. Trois Coccobacilles différents ont été isolés et tous trois sont différents des espèces rencontrées dans la région lyonnaise et le Jura. Ce fait tendrait à prouver que les espèces microbiennes qui parasitent ordinairement un Insecte déterminé, varient d'une région à une autre. Nous verrons par la suite, qu'une telle déduction n'est pas une simple vue de l'esprit, mais semble correspondre à un état de choses déterminé.

L'année 1919 a été caractérisée, dans la région lyonnaise, par une invasion d'intensité comparable à l'invasion correspondante de 1916. Il était intéressant de rechercher si les mêmes espèces, isolées au cours de cette dernière année, se rencontreraient en 1919. Nous avons effectivement retrouvé les deux Coccobacilles isolés de Hannetons récoltés sur le Plateau de Sathonay-Rillieux (n°s 1 et 3), ainsi que le Diplocoque et le Diplobacille, mais nous avons isolé, en outre, trois Bacilles ou Coccobacilles appartenant à des espèces différentes.

De l'ensemble de nos observations sur les parasites microbiens du Hanneton, il résulte que le nombre des espèces qui s'attaquent ordinairement à cet

Insecte, est beaucoup plus élevé qu'on aurait pu le supposer; ce nombre varie dans le temps et dans l'espace; cependant il ne nous semble pas que ces auxiliaires jouent un rôle frénateur de premier ordre; jamais, en effet, nous n'avons pu observer un seul exemple d'épidémie naturelle indiscutable; tous les Hannetons contaminés que nous avons rencontrés, vivaient à l'état sporadique au milieu de centaines d'autres ne présentant nulle trace d'infection. Est-ce à dire que les germes pathogènes que nous avons isolés, n'avaient pas la virulence suffisante pour infecter les Hannetons sains et communiquer de proche en proche une septicémie rapidement mortelle? Nous ne le pensons pas. Il ne suffit pas, en effet, de la présence de germes pathogènes, même très virulents, pour qu'une épidémie se déclare; d'après ce que nous savons des épidémies humaines, il paraît bien démontré que toute maladie de nature microbienne, ne peut se propager, que si cette propagation est favorisée par le jeu de certains facteurs sur la nature desquels on n'est pas encore bien fixé, mais qui échappent certainement à l'influence de l'homme. Rarement, les facteurs qui conditionnent l'épidémie sont tous favorables, et c'est ce qui explique la rareté de celles-ci, bien que les germes pathogènes, qui en sont la cause directe, soient très répandus.

1. *Bacillus melolonthæ liquefaciens* α , nov. sp.

Origine. — Rillieux (Ain); Isolé le 3 mai 1916.

Morphologie. — Coccobacilles de 1-2 μ de grand axe sur 0,8-1 μ de petit axe; non colorables par la méthode de GRAM; coloration bipolaire, après action des couleurs d'aniline. Très mobiles. Variations morphologiques insignifiantes, suivant l'habitat. (Fig. 1.)

CARACTÈRES DES CULTURES EN MILIEUX ARTIFICIELS.

Bouillon ordinaire. — A température de 37°, trouble dès la cinquième heure; ondes moirées; après plusieurs jours, dépôt assez abondant au fond du tube, mais pas d'éclaircissement du milieu, même après plusieurs semaines. Pas de voile; léger anneau à la surface de contact avec le verre.

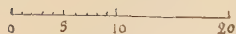


Fig. 1.

Eau peptonée. — Culture abondante; même aspect qu'en bouillon.

Gélose ordinaire. — Culture très abondante; colonies rondes de très grandes dimensions (lorsque le nombre des colonies est faible), pouvant atteindre 5 à 6 m/m de diamètre. Coloration blanc brillant de la culture pendant les premiers jours; reflets légèrement jaunâtres après plusieurs jours; après une ou deux semaines, la gélose prend une teinte jaune-brun clair.

Gélose au rouge neutre. — Pas de bulles gazeuses; pas de virage au jaune canari après 24 heures, deux, trois et quatre jours. Vers le septième jour, le virage commence dans la couche superficielle; après quinze jours, le virage est complet.

Gélatine. — Bulles gazeuses tout le long de la piqure, après 24 heures ; commencement de liquéfaction en tête de clou après 48 heures. La liquéfaction se poursuit lentement et n'est complète qu'après 5 à 6 jours.

Sérum coagulé (sérum de cheval). Après 24 heures (à l'étuve), le milieu devient plus transparent ; après 48 heures, commencement de liquéfaction ; celle-ci est à peu près complète au bout de quatre à cinq jours.

Lait. — Pas de coagulation en 48 heures ; milieu coagulé après trois jours. Caséine un peu digérée à la longue.

Pomme de terre. — Culture abondante, crémeuse, de couleur jaune sale, teinte plus foncée par la suite ; la couleur du substratum se fonce aussi peu à peu.

Actions sur les sucres. — (Ensemencement en eau peptonée tournesolée sucrée) :

Glucose. — Virage au rouge, net et persistant ;

Lactose. — Pas de virage au rouge ; bluissement vers le quatrième jour ;

Saccharose. — Virage net en 18 heures ;

Maltose. — Virage net en 18 heures ; le quatrième jour, légère teinte bleue superficielle ; commencement de décoloration après cinq jours ; décoloration incomplète, même après 15 jours.

Mannite. — Virage net en 18 heures ; mêmes caractères de culture qu'en milieu maltosé.

Galactose. — Virage peu net en 18 heures.

Dulcite. — Pas de virage.

Sur milieux spéciaux de Drygalsky et Endo, le Bacille est sans action.

Action sur les Insectes. — Espèce très pathogène pour toutes espèces d'Insectes ; elle ne détermine aucune lésion caractéristique dans l'organisme des Insectes inoculés ; elle n'est la cause d'aucune réaction cellulaire ou humorale, d'immunité.

2. *Bacillus melolonthae liquefaciens* β , nov. sp.

Origine. — Région de Tours ; isolé en mai 1917.

Morphologie. — Coccobacilles de dimensions variables : $0,9 \mu \times 1,5-2 \mu$, non colorables par la méthode de GRAM. Assez grandes variations de forme suivant l'Insecte parasité (voir page 138). Grande mobilité ; pirouettes rapides. (Fig. 2.)

CARACTÈRES DES CULTURES EN MILIEUX ARTIFICIELS.

Bouillon. — Trouble généralisé dès la quatrième heure à 27° ; pas de voile à la surface ; anneau peu visible à la surface de contact avec le verre. Pas de mauvaise odeur le premier jour.

Gélose. — Culture abondante diffusant très vite à la surface du milieu ; d'où, une grande difficulté pour



Fig. 2.

isoler le microbe ; même en ensemençant sur gélose conservée longtemps en tube non capuchonné, les colonies s'étendent rapidement ; au centre, culture assez épaisse ; tout autour, zones concentriques de plus en plus étendues, peu épaisses ; les zones concentriques des colonies voisines, confluent rapidement et forment une couche continue, relativement peu épaisse, assez transparente et de la couleur du substratum. Le meilleur moyen, pour isoler le Coccobacille, consiste à ensemencher en couche profonde, dans un tube d'Esmarck.

Gélatine. — Liquéfaction lente, en cylindre. Diffusion du microbe dans le fond du culot et trouble du milieu ;

Sérum coagulé. — Culture assez riche ; commencement de digestion le quatrième jour ;

Lait. — Commencement de coagulation le troisième jour ; après huit jours, les 2/3 de la masse de la caséine sont digérés ; pas de progrès dans la digestion, après 15 jours ;

Pomme de terre. — Couche blanc-grisâtre uniforme ;

Action sur les sucres. — Fermentation du glucose et du lévulose ; bleuissement très net des milieux saccharosé, mannité, maltosé et dulcité, aucune action sur lactose, mannite, arabinose, glycogène.

Action sur les Insectes. — Espèce pathogène pour tous les Insectes expérimentés ; inoculée dans la cavité générale des chenilles d'*Euproctis chrysorrhæa*, elle détermine une lésion caractéristique dans certains éléments du sang (page 170) ; cette action élective, sur des éléments déterminés du sang, est encore plus marquée dans le cas du Coccobacille dont nous allons donner la diagnose.

3. *Bacillus melolonthæ liquefaciens* γ , nov. sp.

Origine. — Région de Tours ; isolé en mai 1917.

Morphologie. — Eléments coccobacillaires de même forme et mêmes dimensions que ceux de l'espèce précédente ;

CARACTÈRES DES CULTURES EN MILIEUX ARTIFICIELS.

Les cultures en bouillon, gélose, gélatine, sérum, lait, pomme de terre, présentent les mêmes caractères que celles de l'espèce précédente.

Action sur les sucres. — La culture en milieux sucrés tournesolés est le seul procédé qui permette de différencier le Bacille γ du Bacille β ; tandis que ce dernier ne fait fermenter que le glucose et le lévulose, le Bacille γ fait fermenter le glucose, le saccharose, le maltose (celui-ci, faiblement les deux premiers jours) et le galactose ; par contre, il est sans action sur le lévulose.

Action sur les Insectes. — Espèce pathogène pour tous les Insectes

expérimentés. Inoculée dans la cavité générale des chenilles de *Lymantria dispar*, elle donne naissance à des formes très curieuses qui seront étudiées spécialement au point de vue morphologique; action élective sur certains éléments du sang de chenilles d'*Euproctis chrysorrhoea* L., *Malacosoma neustria* L., *L. dispar* L.

4. *Bacillus melolonthae non liquefaciens* α, nov. sp.

Origine. — Territoire de Sainte-Foy, près de Lyon; isolé en 1916.

Morphologie : Coccobacilles plus allongés que ceux de *B. melolonthae liquefaciens* α : $1,52 \mu \times 0, \mu$; non colorables par la méthode de GRAM; quelques éléments plus allongés, dans le sang de Hanneton (9 à 10 μ); éléments très mobiles. (Fig. 3.)

CARACTÈRES DES CULTURES EN MILIEUX ARTIFICIELS.

Bouillon ordinaire. — Trouble uniforme et rapide à la température de 37°; pas de voile; dépôt blanchâtre au fond du tube après quelques jours; pas d'éclaircissement du milieu.

Eau peptonée. — Mêmes caractères de culture qu'en bouillon;



0 5 10 20

Fig. 3.

Gélose ordinaire. — Culture très abondante; colonies rondes, étalées, très larges (diamètre de 4 à 5 mm.); couleur blanc brillant;

Gélose au rouge neutre. — Pas de virage, même après plusieurs jours d'étuve; très petites bulles de gaz le long de la piqure, après 7 jours;

Gélatine. — Pas de liquéfaction; petites colonies le long de la piqure; culture étalée à la surface;

Sérum coagulé. — Petites colonies le long de la strie; développement peu abondant; pas de liquéfaction;

Lait. — Pas de coagulation;

Pomme de terre. — Culture très abondante, gluante, blanc-grisâtre à surface brillante; couche épaisse;

Action sur les sucres :

Glucose. — Virage net en 18 heures à 37°;

Lactose. — Pas de virage; bleuissement du milieu;

Saccharose. — Pas de virage, bleuissement du milieu;

Maltose. — Virage très net, persistant;

Mannite. — Virage net, persistant;

Galactose. — Virage net, persistant;

Lévulose. — Virage très net;

Action sur les Insectes. — Espèce pathogène pour le Hanneton, les

chenilles de *Vanessa urticae* L., *Eriogaster lanestris* L., *Agrotis segetum* Schiff.; peu pathogène pour chenilles d'*E. chrysorrhoea* L., *L. dispar* L., *Agrotis pronubana* L.; réactions d'immunité humorales dans le sang de ces diverses chenilles; ces réactions seront étudiées en détail dans le cours du 3^e chapitre.

5. *Bacillus melolonthae non liquefaciens* β , nov. sp.

Origine. — Plateau de Sathonay-Rillieux, dans la région de Lyon; isolé en 1916.

Morphologie. — Coccobacilles généralement très courts, dans le sang de Hanneton : $1-2 \mu \times 0,5-0,7 \mu$; mobiles; non colorables par la méthode de GRAM. (Fig. 4.)

CARACTÈRES DES CULTURES.

Bouillon ordinaire. — Trouble abondant et rapide à l'étuve; dépôt dans le fond du tube après quelques jours; très mauvaise odeur de la culture, pendant les premiers jours seulement;

Eau peptonée. — Développement aussi abondant qu'en bouillon;

Gélose ordinaire. — Colonies plus petites que celles de l'espèce précédente; légèrement plus translucides;

Gélose au rouge neutre. — Pas de virage, même après plusieurs jours; après 7 heures d'étuve, très petites bulles de gaz le long de la piqure;

Gélatine. — Pas de liquéfaction; petites colonies le long de la piqure; culture un peu étalée à la surface;

Sérum coagulé. — Développement peu abondant; milieu non digéré après plusieurs jours d'étuve;

Pomme de terre. — Développement abondant; couche gluante, blanc-grisâtre fonçant un peu par la suite;

Action sur les sucres.

Glucose. — Virage net et persistant;

Lévilose. — Virage net et persistant;

Lactose. — Pas de virage; pas de bleuissement;

Saccharose. — Pas de virage ni de bleuissement;

Maltose. — Bleuissement du milieu;

Mannite. — Bleuissement très net;

Galactose. — Virage peu net;

Action sur les Insectes. — Espèce pathogène pour toutes les espèces d'Insectes inoculées; virulence moins grande, cependant, que celle du *B. melolonthae liquefaciens* α .

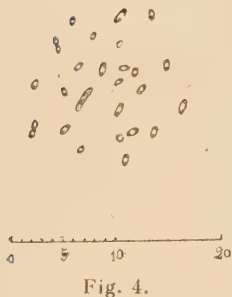


Fig. 4.

6. *Bacillus melolonthae non liquefaciens* γ , nov. sp.

Origine. — Isolé de Hannetons provenant de Lemuy, dans le Jura, le 11 juin 1916. Dans le même lot de Hannetons, nous avons isolé deux autres Coccobacilles qui ont été identifiés avec la première espèce décrite.

Morphologie. — Coccobacilles de forme assez allongée et relativement minces : $1,5-2 \mu \times 0,4 \mu$; mobiles; non colorables par la méthode de GRAM. (Fig. 5.)

CARACTÈRES DES CULTURES.

Bouillon ordinaire. — Trouble uniforme et rapide. Dépôt abondant sans éclaircissement du milieu;

Eau peptonée. — Même développement qu'en bouillon ordinaire;

Gélose ordinaire. — Culture peu épaisse, plus ou moins translucide; colonies rondes d'un diamètre maximum de 2 à 3 m/m.

Gélose au rouge neutre. — Pas de virage; quelques bulles de gaz après 7 heures d'étuve à 37° ; gélose fissurée latéralement en plusieurs endroits, après plusieurs jours d'étuve;

Gélatine. — Pas de liquéfaction;

Sérum coagulé. — Développement peu abondant; pas de liquéfaction;

Lait. — Non coagulé;

Pomme de terre. — Développement assez abondant; culture peu filante gris-jaunâtre, d'aspect terne; n'ayant pas tendance à couler comme celle du Bacille α ;

Action sur les sucres. — Virage au rouge de tous les milieux sucrés tournesolés. L'action sur les sucres différencie donc très nettement le Coccobacille, de tous ceux qui ont été étudiés jusqu'ici.

Action sur les Insectes. — Espèce assez pathogène pour le Hanneton *Vanessa urticae*, *Eriogaster lanestris*, moins pathogène pour chenilles d'*E. chrysorrhoea*, *L. dispar*, *Vanessa polychloros*. Dans le sang de ces diverses chenilles, on observe des réactions d'immunité humorales qui seront étudiées au cours du chapitre III.

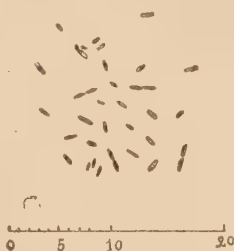


Fig. 5.

7. *Bacillus melolonthae non liquefaciens* δ , nov. sp.

Origine. — Région de Tours; isolé en 1917 de Hannetons provenant de cette région, en même temps que *B. melolonthae liq.* β et γ .

Morphologie. — Petits bâtonnets assez mobiles, à coloration bipolaire, de forme analogue à ceux du Bacille γ : $1,5-2 \mu \times 0,5 \mu$; non colorables par la méthode de GRAM. (Fig. 6.)



Fig. 6.

CARACTÈRES DES CULTURES.

Bouillon ordinaire. — Trouble vers la quatrième ou cinquième heure à 27°. Dépôt assez abondant; pas d'éclaircissement du milieu; pas de voile; anneau à peine visible;

Eau peptonée. — Mêmes caractères de culture;

Gélose ordinaire. — Culture relativement peu épaisse; colonies bien séparées, arrondies, blanches;

Gélatine. — Non liquéfiée; petites colonies en profondeur; culture étalée à la surface;

Sérum coagulé. — Développement assez abondant; milieu non digéré;

Lait. — Non coagulé;

Pomme de terre. — Culture abondante; couclic épaisse à surface terne, de la couleur du substratum; culture non filante;

Action sur les sucres. — Le Bacille δ ne fait fermenter que le glucose et le galactose.

Action sur les Insectes. — Espèce moins pathogène pour les Insectes, que les trois Bacilles liquéfiant la gélatine; nous n'avons pas étudié les réactions d'immunité, chez les espèces résistant à l'inoculation.

8. *Bacillus melolonthae non liquefaciens* ϵ , nov. sp.

Origine. — Plateau de Sathonay-Rillieux, isolé le 3 juin 1919, de Hanne-ton en état d'infection.

Morphologie. — Coccobacille mince et allongé, mobile, semblable au Bacille ν . Il se rapproche aussi de ce dernier Bacille, par les caractères des cultures en milieux artificiels non sucrés; ces caractères étant sensiblement les mêmes que ceux des cultures du Bacille μ , nous ne les reproduirons pas à nouveau.

Action sur les sucres. — Cette action permet de différencier nettement les deux espèces.

Les milieux tournesolés au glucose, au lévulose, à la mannite, à l'arabinose et au galactose virent nettement sous l'action fermentative du Bacille; celui au maltose, vire légèrement après quarante-huit heures; les autres milieux (lactosé, saccharosé, glycogéné) restent colorés en bleu.

Action sur les Insectes. — Très spécifique; la plupart des chenilles inoculées avec ce Bacille, résistent à l'infection, en détruisant les microbes en dehors des cellules. Ces réactions d'immunité seront étudiées en détail dans le cours du chapitre III. Aucun autre Bacille ne détermine de réactions semblables.

9. *Bacillus hoplosternus*, nov. sp.

Origine. — Plateau de Sathonay-Rillieux; isolé de Hanneton déjà parasité par *Bac. melolonthae liquefaciens* α ; nous n'avons rencontré qu'une fois ce Bacille; son rôle paraît donc insignifiant.

Morphologie. — Bacille mobile en bâtonnets droits, ressemblant à ceux de *B. anthracis* ou *B. subtilis*; ces bâtonnets restent colorés par la méthode de GRAM. Forme beaucoup plus constante que celle des Coccobacilles qui viennent d'être décrits. La longueur des éléments mesure 4 à 6 μ , la largeur, 1 μ . Dans le sang de certains Insectes, la longueur des éléments s'accroît dans d'assez grandes proportions.

Le Bacille donne naissance à des spores; c'est la seule espèce entomophyte sporulée que nous possédions. Ces spores sont médianes (1 par élément) et se forment dans les mêmes conditions que celles de *B. anthracis*. A 37°, sur gélose ordinaire, la sporulation commence au bout de 18 à 20 heures; à la température ordinaire, elle est très retardée et ne commence guère que le troisième ou quatrième jour. Avant la sporulation, on peut observer à l'état frais, dans le Bacille, une ou plusieurs masses fortement réfringentes qu'on pourrait prendre à première vue pour des noyaux; mais ces inclusions ne se colorent pas par les méthodes ordinaires. La spore paraît se former par agrégation des inclusions réfringentes; sa forme est ovale; ses dimensions, variables: elle mesure en moyenne, 1,5 à 2 μ sur 1 μ . Elle ne se colore pas par les colorants ordinaires; par la méthode de la double coloration (action du Ziehl à chaud, décoloration par l'acide nitrique, coloration du fond par le bleu de méthylène), on obtient de belles préparations (fig. 7).



Fig. 7.

Lorsque la spore est mûre, qu'elle apparaît brillante à l'état frais, elle ne sort pas du bacille qui l'a formée, par gélification de la membrane: en effet, celle-ci reste toujours plus ou moins visible dans les très vieilles cultures: c'est ainsi que, dans une de ces cultures sur gélose datant de plus de deux ans, nous avons pu observer, autour de chaque spore, les traces de la membrane bacillaire; cette membrane apparaît particulièrement bien quand on examine les spores à l'état frais et en employant un éclairage approprié.

La spore conserve longtemps son pouvoir germinatif (au moins deux à trois ans); ensemencée sur gélose, elle commence de gonfler moins d'une demi-heure après la mise à l'étuve; la paroi devient alors perméable aux colorants. La germination de la spore n'est pas autre chose qu'un réveil de la faculté d'assimilation du microbe; placée dans un milieu chaud et humide, la paroi devient

semi-perméable et les échanges osmotiques se font à nouveau. L'accroissement se fait suivant le grand axe, dans les deux directions opposées; ce mode de germination est très différent de celui de la spore de *B. subtilis*: il présente, par contre, beaucoup d'analogie avec celui des spores de *B. anthracis*.

On a décrit, pour cette dernière espèce, une race asporogène qu'on peut obtenir assez facilement, soit en maintenant le Bacille à l'étuve à 42°5, soit en le cultivant en bouillon de veau peptonisé, additionné d'acide phénique (procédé de Roux) ou de bichromate de potasse (procédé de CHAMBERLAND et ROUX). D'autre part, PASTEUR avait déjà observé que le Bacille du charbon pouvait perdre la faculté de sporuler lorsqu'il restait longtemps en culture sur gélatine. Nous avons constaté, pour *B. hoplosternus*, des faits de même nature: ainsi, des Bacilles obtenus en 1918, avec des spores de 1916, avaient perdu la faculté de sporuler et se présentaient, en culture sur gélose, sous des formes curieuses représentées dans la figure 40. Ces Bacilles asporulés semblent constituer une race caractérisée par un véritable état de misère physiologique.

CARACTÈRES DES CULTURES

Bouillon ordinaire. — Culture abondante et rapide; trouble vers la septième heure à 37°; pas de voile, ce qui différencie le Bacille, du *B. subtilis*. Dès le troisième jour, léger dépôt qui devient ensuite de plus en plus abondant; pas d'éclaircissement du milieu, même après plusieurs semaines.

Gélose ordinaire. — Culture très rapide et très abondante; dès la sixième heure, à 37°, petite trainée blanchâtre le long de la strie. Colonies larges, très étalées, à bords plus ou moins sinueux, à surface un peu chagrinée et quelquefois plissée. Cet aspect se présente particulièrement, lorsque les colonies poussent sur gélose T (milieu de Truche pour la culture du Pneumocoque). Les colonies sont d'apparence plutôt sèche et se détachent facilement de la surface de la gélose. Lorsqu'elles sont riches en spores, elles sont de couleur blanchâtre; dans le cas contraire, elles ont un aspect plus terne.

Gélose au rouge neutre. — Pas de gaz; virage au canari, à partir du quatrième jour, dans la partie supérieure du culot; le virage ne s'étend pas au delà de la moitié supérieure;

Gélatine. — Liquéfiée lentement; à la surface, on observe, au bout de quelques jours, une couche blanche, épaisse et membraneuse, mais assez fragile cependant;

Sérum coagulé. — Pas de liquéfaction; la culture forme à la surface une couche assez épaisse, un peu plissée et d'apparence sèche;

Lait. — Coagulé en deux à trois jours; caséine digérée peu à peu, mais non complètement; le milieu prend une teinte jaunâtre qui brunit par la suite;

Pomme de terre. — Culture abondante; couche crémeuse épaisse, d'abord blanchâtre, puis bientôt gris-brun plus ou moins foncée.

L'action sur les sucres n'est pas assez marquée ni assez constante pour faire

l'objet d'une mention spéciale; d'ailleurs, le Bacille se développe assez mal dans les milieux peptonés sucrés; sur Drygalsky, le développement est à peu près nul.

Action sur les Insectes. — La plupart des espèces inoculées résistent mal à l'infection; seules, les chenilles de *L. dispar* L. offrent quelque résistance à la multiplication du Bacille dans le sang.

10. *Diplobacillus melolonthae*, nov. sp.

Origine. — Isolé le 30 mai 1916, d'un Hanneton déjà infecté par *B. melolonthae liquefaciens* a et provenant du Plateau de Sathonay-Rillieux.

Morphologie. — Bâtonnets non mobiles, minces, de 1,6 à 1,8 μ de long sur 0,4 μ d'épaisseur, colorables par la méthode de GRAM; peu d'éléments simples isolés, pas de chaînettes. Quelques éléments sont anormalement allongés dans le sang du Hanneton. (Fig. 8.)

CARACTÈRES DES CULTURES

Bouillon ordinaire. — Développement assez abondant, surtout rapide à la température de 20°; les premières cultures poussaient lentement à la température de 37° (pas de trouble avant trente-six heures); à partir du mois d'octobre, culture impossible à cette température. L'expérience suivante précise l'influence de la température sur la vitalité du Bacille: le 9 novembre, deux tubes de bouillon T sontensemencés et placés, l'un à l'étuve à 37°, l'autre à température du laboratoire (18° environ); vingt-quatre heures après, le dernier tube est trouble, l'autre est resté clair; trois jours après, il est encore dans le même état. Placé ensuite à la température du laboratoire, le bouillon ne se trouble que le 16, c'est-à-dire le quatrième jour seulement après la sortie de l'étuve. Il semble donc que le séjour à l'étuve ait pour effet de diminuer la vitalité du microbe. Il ne se forme pas de voile à la surface du bouillon; au bout de quelques jours, dépôt blanc au fond du tube; clarification assez rapide du milieu;



Fig. 8.

Gélose ordinaire. — Culture peu abondante; très petites colonies, non étalées, présentant l'aspect des cultures de Pneumocoque;

Gélose sucrée (maltosée ou glucosée). — Culture plus riche qu'en gélose ordinaire; colonies étalées, de la grosseur d'une tête d'épingle;

Gélatine. — En culot, petites colonies tout le long de la piqure, culture non étalée à la surface; pas de liquéfaction. En plaque, petites colonies, les plus grosses, de la dimension d'une tête d'épingle, rondes, translucides, un peu étalées et aplaties;

Sérum coagulé. — Très mince enduit après 48 heures;

Lait. — Pas de coagulation;

Pomme de terre. — Culture assez abondante ; enduit blanc, développement abondant dans l'eau au fond du tube.

Action sur les sucres. — Le Bacille fait fermenter tous les sucres. Sur Drygalsky, petites colonies bleues translucides.

Action sur les Insectes. — Le Hanneton, les chenilles de *Vanessa urticae* L. sont assez sensibles à l'infection ; les chenilles d'*E. chrysorrhæa* L., de *L. dispar* L., les Vers à soie offrent une certaine résistance à l'infection.

11. *Diplococcus melolonthæ*, nov. sp.

Origine. — Même origine que l'espèce précédente ; isolé de Hanneton déjà infecté par *B. melolonthæ non liquefaciens* β .

Morphologie. — Cocci de 1 à 1,2 μ sur 0,8 à 0,9 μ , non mobiles ; colorables par la méthode de GRAM. La forme est donc légèrement ovoïde ; quelques cocci sont parfaitement arrondies, mais elles représentent des formes très jeunes ; elles sont disposées généralement par paires. Nous verrons, en étudiant la variabilité des microbes (page 137), que cette disposition n'est pas absolue.

CARACTÈRES DES CULTURES.

Bouillon ordinaire. — Culture relativement pauvre ; trouble en dix-huit à vingt heures à la température du laboratoire. A la température de 37°, le développement est nul ; un tube de culture ayant séjourné 3 jours à cette température reste stérile si on le place ensuite à la température de 18-20°. L'action de la chaleur est donc plus énergique sur le Diplocoque que sur le Diplobacille.



Fig. 9.

Bouillon T. — Culture beaucoup plus riche qu'en bouillon ordinaire ; dépôt assez abondant après quelques jours et éclaircissement rapide du milieu. Quelques mois après son isolement, l'aspect des cultures en bouillon T s'est profondément modifié : peu de jours après l'ensemencement, on observe la formation habituelle du dépôt blanc au fond du tube ; mais au-dessus, il se forme une zone d'aspect floconneux dont le niveau supérieur s'abaisse de plus en plus ; finalement, le milieu s'éclaircit complètement, mais le dépôt blanchâtre conserve l'aspect floconneux.

Gélose ordinaire. — Culture pauvre ; très petites colonies non étalées ressemblant à celles du Pneumocoque ;

Gélose T. — Développement plus abondant ; colonies un peu plus volumineuses, rondes, blanc-grisâtre, de la grosseur d'une tête d'épingle ;

Gélose sucrée (maltosée ou glucosée). — Développement comparable à celui qu'on observe en gélose T.

Gélatine. — Petites colonies tout le long de la piqûre ; culture non étalée à

la surface ; colonies rondes assez bien développées en profondeur ; pas de liquéfaction. Lorsque le microbe est passé par gélatine, sa vitalité semble accrue : il pousse plus vite et plus abondamment sur les autres milieux ;

Sérum coagulé. — Enduit mince à peine visible, en 48 heures ;

Lait. — Pas de coagulation après plusieurs jours ;

Pomme de terre. — Pas de développement apparent en partant de culture en bouillon T ; en partant de culture en gélatine, enduit peu visible développement en longues chaînettes ;

Bouillon-bile (parties égales de chaque). — Développement abondant ;

Bile (de bœuf). — Développement moins abondant qu'en bouillon-bile ; très longues chaînettes ;

Action sur les sucres. — Fermentation du glucose, du saccharose, du maltose, de la mannite, du galactose ; pas d'action sur le lactose ; le bouillon lactosé tournesolé est décoloré à peu près complètement en 48 heures, mais en agitant, le milieu se recoloré ; il se recoloré normalement au bout de 3 à 4 jours.

Action sur les Insectes. — Le Hanneton ordinaire, le *Rhizotrogus solstitialis* L., les chenilles d'*Eriogaster lanestris* L., de *Vanessa urticae* L. sont assez sensibles à l'infection provoquée par le *D. melolonthae* ; les chenilles de *L. dispar* L. et les Vers à soie, par contre, offrent une résistance assez grande à l'infection.

PARASITES MICROBIENS DES CHENILLES DE *Lymantria dispar* L.

Notre étude du rôle des Bactéries dans la destruction naturelle du Hanneton nous avait conduit à cette conclusion que la puissance de multiplication de l'Insecte ne paraissait nullement entravée par celle des auxiliaires microbiens. La même conclusion ressort de toutes les observations que nous avons faites sur le rôle des épidémies naturelles, dans la destruction des chenilles de *L. dispar* L. Ces observations ont été poursuivies depuis 1916, dans plusieurs foyers de la région Lyonnaise ; année par année, jusqu'à aujourd'hui, nous avons pu suivre les diverses péripéties de ces foyers restreints, et déterminé les causes générales de disparition de certains d'entre eux.

En 1916 et 1917, nous observons la présence de très nombreuses chenilles sur les Platanes et Ormes des Quais du Rhône, à Lyon, principalement dans la partie qui s'étend entre les bâtiments de la Faculté de médecine et le pont de la Guillotière (rive droite et rive gauche) ; pendant ces deux années, la proportion des chenilles, infectées naturellement, n'a pas dépassé 0,5 0/0 et encore entre-t-il, dans cette proportion, la mortalité causée par la grasserie.

En 1918, les chenilles sont beaucoup moins nombreuses, mais la proportion des chenilles infectées est encore plus faible que l'année précédente ; en 1919, le foyer peut être considéré comme définitivement éteint.

En 1918, nous découvrons un nouveau foyer, moins important que celui

de Lyon, à Vénissieux, dans la banlieue S.-E. de Lyon; d'après les renseignements recueillis, ce foyer existait déjà depuis deux ans. Le même foyer existe encore l'année suivante, mais diminue d'intensité; il s'éteint définitivement en 1920; au cours de ces deux années, nous n'avons pas observé un seul cas d'infection microbienne.

En 1919, nous découvrons deux nouveaux petits foyers, à moins de 1 kilomètre de celui de Vénissieux; ces deux foyers disparaissent en 1921 sans que nous ayons observé de chenilles parasitées par des microbes.

Ainsi, l'histoire des invasions de *L. dispar* L. dans la région lyonnaise depuis 1916 peut être résumée ainsi : apparition de foyers sporadiques d'étendue restreinte et de durée limitée (2 à 3 ans); l'extinction des foyers n'a certainement pas pour cause des épizooties de nature microbienne; elle peut être attribuée à l'action des Insectes auxiliaires et des Oiseaux. Deux espèces de parasites ont été plus particulièrement rencontrées : un *Apanteles* et une Tachinaire, toutes deux non encore déterminées. Parmi les Oiseaux, un surtout nous paraît particulièrement redoutable pour les chenilles : c'est le Rouge-queue ou Rossignol des murailles (*Ruticilla phoenicurus*). Ainsi, dans le jardin de la Station entomologique, à Saint-Genis-Laval, nous n'avons jamais réussi à acclimater le Liparis sur des Sycomores et Platanes, en raison de l'abondance des Rouges-queues que nous avons maintes fois surpris en train de capturer des chenilles. Ces mêmes Oiseaux captureraient même les chenilles, que nous élevions en plein air, dans les cadres de Fiske.

Les parasites microbiens que nous avons isolés de chenilles malades, ne peuvent être considérés comme la cause d'épizooties; mais il est possible qu'à un moment donné, par exemple, lorsque les facteurs externes sont favorables, ces mêmes parasites déterminent une mortalité très importante; il y a donc intérêt à les connaître.

1° *Bacillus lymantriae* α , PICARD et BLANC.

Cette espèce a été décrite sommairement par PICARD et BLANC, en 1913. Nous avons isolé, en 1916, un Coccobacille de forme analogue que nous n'avons pu identifier avec certitude avec celle de ces deux auteurs, en raison de l'insuffisance de la diagnose et de l'absence de souche de comparaison; nous le considérons, néanmoins, comme appartenant à la même espèce. (Fig. 10.)



Fig. 10.

CARACTÈRES DES CULTURES.

Bouillon ordinaire. — Trouble en 5 heures à la température de 37°; en 18-20 heures, à la température de 20°; après plusieurs jours, dépôt sans clarification du milieu;

Gélose ordinaire. — Culture abondante, blanchâtre, brillante, un peu crémeuse; colonies rondes, très larges;

Gélose au rouge neutre. — Pas de bulles gazeuses; pas de virage après trois et quatre jours;

Gélatine. — Pas de liquéfaction; envahissement de la partie supérieure du culot par les microbes, ce qui lui donne un aspect trouble;

Sérum coagulé. — Culture assez abondante; pas de liquéfaction;

Lait. — Pas de coagulation;

Pomme de terre. — Culture abondante; couche épaisse de couleur jaunâtre, tournant progressivement au brun.

Action sur les sucres. — Fermentation du glucose, du lévulose et du galactose; les milieux au saccharose, au lactose, au maltose, à la mannite, ne changent pas de coloration ou bleuissent;

Action sur les Insectes. — Espèce pathogène pour la plupart des Insectes.

2° *Bacillus lymantricola adiposus*, nov. sp.

Origine. — Isolé d'une chenille morte avec les symptômes externes de la Grasserie et récoltée, en 1917, à Lyon.

Morphologie. — Coccobacilles de $1\ \mu$ de large sur $2\ \mu$ de long, (fig. 25), mobiles, non colorables par la méthode de GRAM; cette forme n'est d'ailleurs pas constante et nous verrons, en étudiant le polymorphisme des Bactéries, les variations de formes qu'on peut observer, suivant le milieu dans lequel évolue le Bacille et suivant l'époque à laquelle sont faites les observations.

CARACTÈRES DES CULTURES.

Bouillon ordinaire. — Culture abondante et rapide à 37° ; dépôt léger dès le deuxième jour; pas d'éclaircissement du milieu; pas de voile;

Gélose ordinaire. — Colonies larges, arrondies, assez épaisses, de couleur blanc-jaunâtre; plus ou moins transparentes;

Gélatine. — Liquéfaction très rapide, en cylindre;

Sérum coagulé. — Culture abondante; digestion rapide; milieu déjà liquéfié en partie le deuxième jour;

Lait. — Coagulé le troisième jour à la température de $18-20^{\circ}$; caséine non digérée, même après quinze jours.

Action sur les sucres. — Le *B. lymantricola adiposus* fait fermenter tous les sucres; les milieux tournesolés sucrés sont plus ou moins décolorés, à l'exception des milieux glucosés et saccharosés.

Action sur les Insectes. — Très spécifique; le microbe agit électivement sur le tissu adipeux qu'il désorganise rapidement; la maladie qu'il provoque

est donc bien caractérisée ; ses symptômes sont ceux de la grasserie. Nous l'étudierons en détail au cours du deuxième chapitre. Le Bacille est très pathogène pour toutes espèces d'Insectes.

3° *Bacillus lymantriae* β , nov. sp.

Cette espèce a été rencontrée en association avec le *B. lymantricola adiposus* ; elle se rapproche du Coccobacille de PICARD et BLANC, dont elle ne diffère que par son action fermentative sur mannite.

Diplococcus liparis, nov. sp.

Origine. — Chenille déjà parasitée par *B. lymantriae* et trouvée à Lyon en 1916.

Morphologie. — Cocci colorables par la méthode de GRAM, non mobiles ; diamètre moyen : $1\ \mu$; le microbe ne forme jamais de chaînettes en culture, ou dans le sang des Insectes en état d'infection. (Fig. 11.)

CARACTÈRES DES CULTURES

Bouillon ordinaire. — Trouble peu abondant mais assez rapide à 37° (5-6 heures). Clarification du milieu en quelques jours ; pas de voile ni d'anneau ;

Gélose ordinaire. — Culture peu abondante ; bien poussée en vingt-quatre heures, petites colonies ressemblant à celles du Pneumocoque, rondes et translucides ;

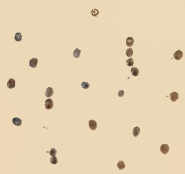


Fig. 11.

Gélose au sang (sang de lapin mélangé à la gélose ordinaire avant qu'elle se prenne en masse). — Culture plus riche qu'en gélose ordinaire ; colonies plus étendues, d'aspect grisâtre ;

Gélose au rouge neutre. — Pas de virage après plusieurs jours ;

Gélose ascite. — Culture abondante ;

Sérum coagulé. — Petites colonies aplaties un peu plus grosses que sur gélose ; pas de liquéfaction du milieu ;

Lait. — Pas de coagulation ;

Pomme de terre. — Culture assez abondante, blanche, filante ;

Bouillon-bile. — Culture abondante et rapide, à 20° comme à 37° ;

Action sur les sucres. — Fermentation rapide du glucose, du lévulose, du lactose (le bouillon lactosé tournesolé, vire d'abord au rouge, puis se décolore ; en plaçant le tube à la température ordinaire, la coloration pelure d'oignon réapparaît partiellement ; à 37° , le bouillon se recoloré après trente-six heures), du saccharose, du maltose, de la mannite et du galactose ; les milieux glycinés et dulcités ne changent pas de coloration.

Action sur les Insectes. — Peu pathogène pour chenilles de *L. dispar* et d'*E. chrysorrhoea* L., les chenilles d'*Eriogaster lanestris* L., *Vanessa urticae* L., *Pieris brassicae* L., sont assez sensibles à l'infection.

4^e *Bacillus liparis*, nov. sp.

Origine. — Isolé, en 1917, du sang d'une chenille déjà infectée par *B. lymantriae*, et récoltée à Lyon.

Morphologie. — Bâtonnets de 2 à 3 μ de long sur 0,7 μ d'épaisseur, immobiles, colorables par la méthode de GRAM. (Fig. 12.) Ces bâtonnets sont remarquables par leur forme plus ou moins incurvée, ils ressemblent à s'y méprendre, au Bacille de la Diphtérie; la ressemblance est encore accentuée par la disposition des bâtonnets en dents de peigne, sur les frottis de culture ou de sang infecté. Cependant, les formes en *os de grenouille*, qui caractérisent le genre *Corynebacterium*, font défaut. Dans les cultures sur milieux sucrés, on observe des formes anormales qui seront étudiées à la fin du présent chapitre.



0 5 10 20.
Fig. 12

CARACTÈRES DES CULTURES

Bouillon ordinaire. — Culture abondante, mais lente; le milieu ne commence à troubler, qu'après un séjour d'au moins vingt-quatre heures à l'étuve à 37°. A la température ordinaire, le développement est encore plus lent. En deux à trois jours, dépôt blanc au fond du tube; le milieu s'éclaircit peu à peu;

Gélose ordinaire. — Développement lent, mais culture abondante; colonies rondes, de grand diamètre, d'aspect blanc brillant;

Gélose-bile. — Développement abondant et plus rapide qu'en gélose ordinaire;

Gélose maltosée. — Culture aussi abondante qu'en gélose ordinaire; pendant les premiers jours, l'aspect de la culture est sensiblement le même; mais après un séjour plus ou moins prolongé à la température ordinaire, le Bacille élabore un pigment jaunâtre qui diffuse peu à peu dans toute la masse;

Sérum coagulé. — Culture pauvre; très petites colonies d'aspect terne, pas de liquéfaction;

Lait. — Non coagulé;

Pomme de terre. — Culture très pauvre, non apparente macroscopiquement; liquide du fond du tube, non trouble;

Action sur les sucres. — En eau peptonée tournesolée sucrée, la culture est très pauvre, quel que soit le sucre employé; elle ne se manifeste par aucun trouble apparent, mais seulement, au bout de quelques jours, par un dépôt léger au fond du tube. Si l'on examine à l'état frais une goutte du milieu de culture,

après un séjour de vingt-quatre heures à l'étuve, on observe quelques petits amas de microbes ; ces amas sont trop petits pour être vus à l'œil nu ; mais comme ils sont, d'autre part, peu abondants dans le liquide, on comprend que ce dernier conserve l'apparence claire.

Action sur les Insectes. — Peu pathogène ; microbe extrêmement phagocytable ; nous étudierons cette propriété caractéristique du Bacille au cours du chapitre III.

PARASITES MICROBIENS DES CHENILLES DE *Pieris brassicae* L.

Toutes les espèces que nous avons isolées des chenilles de Piérides, ont été rencontrées en 1917, lors de la formidable invasion qui ravagea les plantations de Choux dans la région lyonnaise et la plupart des régions de France. Cependant on ne peut dire que les plus pathogènes d'entre elles aient enrayer sensiblement l'invasion ; le rôle frénateur principal fut joué par les *Apanteles* (*Apanteles glomeratus* L.) qui parasitèrent la presque totalité des chenilles de première génération. On peut considérer que les parasites microbiens ne jouèrent qu'un rôle secondaire et qu'ils infectèrent une proportion anormale de chenilles, grâce à la présence du parasite Insecte. En effet, pendant les années où les *Apanteles* sont rares, les chenilles infectées sont aussi extrêmement rares ; ces parasites semblent donc prédisposer les chenilles à l'infection.

Comme chez le Hanneton, les Bacilles les plus fréquemment rencontrés, appartiennent au groupe des Coccobacilles ; les autres Bacilles ou Cocci se rencontrent généralement en association avec les Coccobacilles.

1° *Bacillus pieris fluorescens*, nov. sp.

Origine — Isolé d'une chenille infectée, récoltée sur le Plateau de Sathonay-Rillieux.

Morphologie. — Bâtonnets à mouvements extrêmement rapides, difficiles à suivre sous le microscope ; oscillations à peine marquées. Non colorable par la méthode de GRAM. Dimensions moyennes : $1-1,5 \mu \times 0,7-0,8 \mu$. (Fig. 13.)

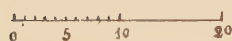
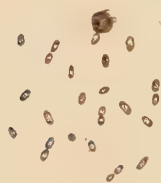


Fig. 13.

CARACTÈRES DES CULTURES

Bouillon ordinaire. — Trouble généralisé dès la quatrième heure à 27° ; voile blanc, fragile, assez épais ; visible dès le deuxième jour ; formation de pigment vert fluorescent, dans la partie supérieure du tube, dès le deuxième jour ;

Gélose ordinaire. — Culture assez abondante ; colonies larges, assez peu épaisses, plus ou moins transparentes ; consistance muqueuse ; sécrétion de pigment vert fluorescent imprégnant toute la masse de la gélose ;

Gélatine. — Liquéfaction lente, en entonnoir évasé;

Sérum coagulé. — Culture assez abondante; commencement de digestion du milieu, dès le deuxième jour; liquéfaction très lente;

Lait. — Coagulation après deux à trois jours; le milieu s'éclaircit ensuite peu à peu; après quinze jours, il est presque complètement éclairci;

Pomme de terre. — Culture peu abondante; couleur un peu plus foncée que celle du substratum; en prélevant de la culture avec la spatule de platine, on entraîne une partie de la couche, les microbes adhérant les uns aux autres par une substance muqueuse interstitielle.

Action sur les sucres. — Le Bacille ne fait fermenter que le glucose et le galactose, ce dernier sucre, après trois jours seulement; les bouillons tournésolés, lévulosés, lactosés, saccharosés, mannités, bleuissent plus ou moins rapidement.

Action sur les Insectes. — Microbe pathogène pour toutes espèces d'Insectes.

Le *B. pieris fluorescens* se rapproche beaucoup, par les caractères des cultures en milieux artificiels, du *B. fluorescens liquefaciens* de Flügge fréquent dans l'eau, le sol et les matières en décomposition, les choux par exemple. Il se rapproche ainsi de l'espèce isolée par HOLLANDE et VERNIER, des chenilles de *Malacosoma castrensis* L.

2° *Bacillus pieris liquefaciens* α, nov. sp.

Origine. — Plateau de Sathonay-Rillieux.

Morphologie. — Coccobacilles de petite taille ($1, 2-2 \mu \times 0,5 \mu$) non colorables par la méthode de GRAM (fig. 14), peu mobiles; dans le sang des chenilles de *L. dispar* L., le Bacille prend une forme filamenteuse très différente de la forme type; nous étudierons ces variations à la fin du présent chapitre.

CARACTÈRES DES CULTURES.

Bouillon ordinaire. — Trouble généralisé dès la 4^e heure à 27°; pas de voile; dépôt sans éclaircissement du milieu;

Gélose ordinaire. — Culture abondante; colonies rondes très larges, assez épaisses, de couleur blanc jaunâtre tirant peu à peu sur le brun clair;

Gélatine. — Pas de liquéfaction pendant les trois premiers jours, à la température de 15-16°; le quatrième jour, très petit entonnoir qui s'élargit progressivement;

Sérum coagulé. — Culture abondante, jaunâtre; milieu en partie digéré le deuxième jour;

Lait. — Non coagulé; à peu près complètement éclairci le huitième jour;



Pomme de terre. — Culture abondante, jaune-brun ;

Action sur les sucres. — Le Bacille ne fait fermenter aucun sucre ;

Action sur les Insectes. — Bacille pathogène pour toutes espèces d'Insectes

3° *Bacillus pieris liquefaciens* β , nov. sp.

Origine. — Plateau de Sathonay-Rillieux.

Morphologie. — Bacilles non colorables par la méthode de GRAM ; assez mobiles ; oscillations et pirouettes. Dimensions moyennes : $2-4 \mu \times 0,6 \mu$. (Fig. 15.)

CARACTÈRES DES CULTURES.

Bouillon ordinaire. — Trouble uniforme et rapide ; pas de voile ;

Gélose ordinaire. — Culture abondante, diffusant rapidement à la surface, comme celle du *B. melolonthae liquefaciens* γ ;

Gélatine. — Liquéfaction lente ; l'entonnoir de liquéfaction n'atteint même pas les bords du tube après quatre jours ;

Sérum coagulé. — Liquéfaction rapide ;

Lait. — Non coagulé ;

Pomme de terre. — Culture peu abondante ; aspect terne ; non coulante ; couleur du substratum ;

Action sur les sucres. — Le Bacille fait fermenter le glucose et le maltose ; le bouillon lévulosé, après virage au rouge, le troisième jour, redevient bleu ;

Action sur les Insectes. — Microbe pathogène pour toutes espèces d'Insectes.

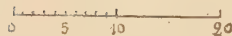
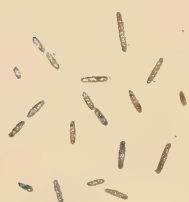


Fig. 15.

4° *Bacillus pieris non liquefaciens* α , nov. sp.

Origine. — Plateau de Sathonay-Rillieux.

Morphologie. — Bacille non colorable par la méthode de GRAM ; très mobile. Dimensions moyennes : $1-2 \mu \times 0,6-0,7 \mu$. (Fig. 16.)

CARACTÈRES DES CULTURES.

Bouillon ordinaire. — Trouble uniforme et rapide ; pas de voile ;

Gélose ordinaire. — Culture abondante ; grosses colonies arrondies ; blanchâtres, à surface brillante ; auréole à peine visible ;

Gélatine. — Pas de liquéfaction, colonie étalée à la surface ; sur gélatine en plaque, colonies de surface de

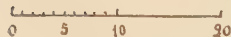


Fig. 16.

1 mm 1/2 environ de diamètre, régulièrement arrondies; surface brillante, blanc-grisâtre; colonies de profondeur opaques, plus ou moins lenticulaires;

Sérum coagulé. — Culture assez abondante; pas de liquéfaction;

Lait. — Non coagulé après trois jours;

Pomme de terre. — Culture abondante; couche épaisse de couleur gris-jaunâtre, un peu filante;

Action sur les sucres. — Fermentation du glucose, du lévulose, du lactose, du saccharose (après trois jours seulement), du galactose et de l'arabinose; Bacille sans action sur mannite, maltose, dulcité, glycogène.

Action sur les Insectes. — Bacille peu pathogène pour chenilles de *L. dispar* L., *E. chrysorrhoea* L., Réactions d'immunité humorales généralement; les chenilles de *Vanessa polychloros* L. sont plus sensibles à l'infection; celles de *V. urticae* L. et de *Pieris brassicae* L., s'infectent très facilement.

5° *Bacillus pieris non liquefaciens* β , nov. sp.

Origine. — Plateau de Sathonay-Rillieux.

Morphologie. — Bacille mobile, non colorable par la méthode de GRAM; Dimensions moyennes : $1,5-2 \mu \times 0,7 \mu$. (Fig. 17.)

CARACTÈRES DES CULTURES.

Bouillon ordinaire. — Trouble rapide et homogène; pas de voile;

Gélose ordinaire. — Culture assez abondante; colonies larges, arrondies, de couleur blanchâtre, fluorescentes quand elles sont vues par transparence;

Gélatine en tube. — Pas de liquéfaction; colonie étalée à la surface de la gélatine. Gélatine en plaque : colonies bien visibles après vingt-deux heures à la température de 23°. Colonies de surface largement étalées atteignant facilement 4 à 5 mm. de diamètre après trente-quatre heures d'étuve, à bords irréguliers et plus ou moins profondément échancrés; surélevées au centre, s'amincissant progressivement vers la périphérie; crêtes mamelonnées rayonnantes sur toute la surface; petites plages surbaissées. Colonies profondes opaques, quelquefois régulièrement sphériques, le plus souvent plus ou moins déformées : diamètre moyen : 0,3 mm.



Fig. 17.

Sérum coagulé. — Culture assez abondante; couche terne; milieu non digéré;

Lait. — Non coagulé.

Pomme de terre. — Culture abondante; couche terne, non coulante;

Action sur les sucres. — Fermentation du glucose, du lévulose, de la mannite, du galactose ;

Action sur les Insectes. — Espèce plus pathogène que la précédente pour la plupart des Insectes.

6° *Bacillus pieris agilis*, nov. sp.

Origine. — Isolé de chenille infectée récoltée à Sellières (Jura).

Morphologie. — Coccobacille très mobile, non colorable par la méthode de GRAM. Dimensions : $1,5-2,5 \mu \times 0,8-0,9 \mu$. (Fig. 18.)

CARACTÈRES DES CULTURES.

Bouillon ordinaire. — Trouble généralisé dès la quatrième heure à 27° ; pas de voile ;

Gélose ordinaire. — Culture assez abondante ; colonies blanchâtres ressemblant à celles de *B. pieris non liquefaciens* α ;

Gélatine. — Non liquéfiée ;

Sérum coagulé. — Culture assez abondante ; non digéré ;

Lait. — Non coagulé ;

Pomme de terre. — Culture assez abondante, de la couleur du substratum ; peu coulante ;



Fig. 18.

Action sur les sucres. — Le Bacille ne fait fermenter que le glucose. Décoloration plus ou moins complète des bouillons tournesolés lévulosés, saccharosés, mannités, ducités, glycogénés.

Action sur les Insectes. — Espèce pathogène pour tous les Insectes expérimentés ; action spécifique sur certains éléments du sang des chenilles d'*E. chrysorrhœa*, analogue à celle causée par le *B. melolonthae liq. γ*.

7° *Diplococcus pieris*, nov. sp.

Origine. — Plateau de Sathonay-Rillieux : isolé d'une chenille en état d'infection généralisée.

Morphologie. — Cocci de forme arrondie ; $0,8-0,9 \mu$ de diamètre, non en chaînettes dans les cultures ou dans le sang des Insectes ; colorables par la méthode de GRAM. (Fig. 19.)

CARACTÈRES DES CULTURES.

Bouillon ordinaire. — Trouble uniforme et rapide ; culture abondante ; dépôt dès le deuxième jour ; éclaircissement assez rapide du milieu ;

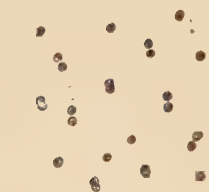


Fig. 19.

Gélose ordinaire. — Culture pauvre ; petites colonies blanc-jaunâtre ;

Gélatine en tube. — Pas de liquéfaction ; petites colonies tout le long de la piqure ; rien à la surface. *Gélatine en plaque :* colonies de surface bien arrondies, opaques, un peu jaunâtres, non étalées ; colonies de profondeur plus petites, non régulièrement sphériques, quelques-unes plus ou moins aplaties ; coloration très différente de celle des colonies de surface : d'un beau jaune.

Sérum. — Culture pauvre ; couche à peine visible, d'aspect terne ;

Lait. — Non coagulé ;

Pomme de terre. — Culture peu abondante ; couche mince colorée en jaune soufre ;

Action sur les sucres. — Fermentation de glucose, lévulose, lactose (le bouillon lactosé tournesolé se décolore d'abord, puis se recoloré ensuite en virant au rouge), saccharose, mannite, maltose, galactose, arabinose. Le microbe est sans action sur dulcité et glycogène.

Action sur les Insectes. — Espèce assez pathogène pour chenilles de *P. brassicæ*, *V. urticæ* ; peu pathogène pour chenilles d'*E. chrysorrhæa* et *L. dispar*.

8° *Diplobacillus pieris*, nov. sp.

Origine. — Plateau de Sathonay-Rillieux.

Morphologie. — Bacille non mobile, colorable par la méthode de GRAM ; éléments très minces, de 1 à 2 μ de long ; souvent disposés par paires. (Fig. 20.)

CARACTÈRES DES CULTURES

Bouillon ordinaire. — Trouble assez rapide, mais léger ; pas de voile ; dépôt dès le deuxième jour ; éclaircissement assez rapide du milieu ;

Gélose ordinaire. — Culture pauvre ; petites colonies peu épaisses, transparentes ;

Gélatine en tube. — Culture mal développée le long de la piqure ; rien à la surface. *Gélatine en plaque :* colonies peu bombées, à contours plus ou moins irréguliers, translucides, brillantes ; colonies de profondeur très petites, en général, régulièrement sphériques ;

Sérum coagulé. — Culture pauvre ; milieu non digéré ;

Lait. — Non coagulé ;

Pomme de terre. — Culture pauvre ; couche mince, blanchâtre ;

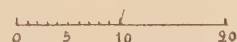


Fig. 20.

Action sur les sucres. — Fermentation de glucose, lévulose, saccharose, mannite, maltose, galactose ; pas d'action sur lactose, dulcité, glycogène, arabinose (le bouillon tournesolé se décolore d'abord, puis se recoloré) ;

Action sur les Insectes. — Pathogénicité faible, sauf pour chenilles de *V. urticae*, *P. brassicae*.

9° **Bacillus proteidis**, nov. sp.

Origine. — Plateau de Sathonay-Rillieux.

Morphologie. — Bacille colorable par la méthode de GRAM; non mobile; très protéiforme : sur une même préparation, on rencontre à la fois des éléments en forme de Coccus plus ou moins allongés, d'autres, en forme de bâtonnets allongés, droits ou incurvés, renflés dans la partie médiane ou à une extrémité. Dimensions ordinaires : $1\ \mu \times 1,5\ \text{à}\ 4\ \mu$.

CARACTÈRES DES CULTURES

Bouillon ordinaire. — Trouble uniforme dès la cinquième heure à 27°;

Gélose ordinaire. — Culture abondante et rapide; grosses colonies à surface brillante, de couleur d'abord blanche, puis jaune-clair;

Gélatine. — Non liquéfiée; culture mal développée en profondeur, rien à la surface;

Sérum coagulé. — Culture abondante, de couleur légèrement jaunâtre; milieu non liquéfié le deuxième jour; commencement de liquéfaction le troisième jour, digestion lente;

Lait. — Non coagulé; à peu près complètement éclairci en huit jours; couleur jaune-brun clair du milieu;

Pomme de terre. — Culture abondante, blanc grisâtre, à surface assez brillante, non filante; après quelques jours, pigmentation jaune de la culture; à la surface de la couche, zones concentriques bien marquées.

Action sur les sucres. — *Bacillus proteidis* ne fait fermenter aucun sucre;

Action sur les Insectes. — Espèce peu pathogène pour les Insectes; réactions humorales curieuses dans le sang de diverses chenilles.

PARASITES MICROBIENS DU VER A SOIE (*Sericaria mori* L.)

Bien que l'étude des parasites microbiens des Insectes utiles soit en dehors du programme de recherches que nous nous sommes fixé, nous ferons connaître, néanmoins, deux espèces isolées de Vers à soie provenant d'un élevage défectueux de Saint-Genis-Laval; l'étude de ces deux espèces offre un intérêt particulier, par les réactions qu'elles déclanchent dans la cavité générale de certaines chenilles de Macrolépidoptères.

1° *Bacillus bombycis* non liquefaciens, nov. sp.

Origine. — Saint-Genis-Laval.

Morphologie. — Coccobacilles non colorables par la méthode de GRAM, mobiles; Dimensions ordinaires : $1-2 \mu \times 0,8 \mu$. (Fig. 21.)

CARACTÈRES DES CULTURES

Bouillon ordinaire. — Trouble abondant et rapide, homogène;

Gélose ordinaire. — Culture abondante; colonies larges, arrondies, blanc-brillant;

Gélatine. — Non liquéfiée; culture un peu étalée à la surface;

Sérum coagulé. — Culture assez abondante; milieu non liquéfié;

Lait. — Non coagulé après 3 jours;

Pomme de terre. — Culture abondante; couche épaisse de couleur un peu plus claire que le substratum, peu filante;

Action sur les sucres. — Fermentation du glucose, du lévulose, du saccharose, de l'arabinose;

Action sur les Insectes. — Microbe peu pathogène pour chenilles de *L. dispar* L., d'*E. chrysorrhæa* L.; chenilles de *Pieris brassicæ* L., *V. urticæ* L., sensibles à l'infection.



Fig. 21.

2° *Diplococcus bombycis*, nov. sp.

Origine. — Saint-Genis-Laval.

Morphologie. — Cocci ovoïdes allongés, colorables par la méthode de GRAM. Dimensions moyennes : $1,2 \mu \times 0,8-0,9 \mu$.

CARACTÈRES DES CULTURES

Bouillon ordinaire. — Trouble uniforme assez rapide, peu dense; dépôts dès le 2^e jour; éclaircissement assez rapide du milieu;

Gélose ordinaire. — Culture pauvre; petites colonies peu épaisses se détachant assez mal sur le fond; diamètre atteignant à peine $1/2$ mm.;

Gélatine en tube. — Culture développée tout le long de la piqure; rien à la surface. *Gélatine en plaque:* colonies de surface plus ou moins translucides, régulièrement bombées; aspect de petites gouttelettes brillantes; colonies de profondeur non régulièrement sphériques; quelques-unes, plus ou moins aplaties; couleur jaune;

Sérum coagulé. — Culture pauvre; milieu non digéré;

Lait. — Non coagulé;

Action sur les sucres. — Fermentation de glucose, lévulose, lactose, saccharose, mannite, maltose, galactose, arabinose.

Action sur les Insectes. — Espèce assez pathogène pour Hanneçons, chenilles de *V. urticae* L., *Eriogaster lanestris* L.; beaucoup moins pathogène pour chenilles de *L. dispar* L. et *E. chrysorrhœa* L.

ESSAI DE CLASSIFICATION DES MICROBES ENTOMOPHYTES

D'après les caractères morphologiques et biologiques, les différentes espèces que nous avons décrites peuvent être réunies en plusieurs groupes assez homogènes :

I. Coccobacilles. — Caractérisés par leur motilité et par la luxuriance de leur culture sur gélose ordinaire et en bouillon ; la culture en bouillon ne s'éclaircit pas. On distingue deux groupes secondaires, l'un qui comprend les espèces les plus pathogènes pour les Insectes et dont la plupart liquéfient la gélatine ; l'autre, celles qui ne sont pathogènes que pour quelques-uns ; en général, ces derniers ne liquéfient pas la gélatine.

Section I. — a) *B. melolonthæ liquefaciens* α .

b) *B. melolonthæ liquefaciens* β et γ ,

action spécifique sur certains éléments du sang de Chenilles d'*E. chrysorrhœa*.

c) *B. lymantricola adiposus*,

action spécifique sur le tissu adipeux des Chenilles.

d) *B. pieris liquefaciens* α .

e) *B. pieris liquefaciens* β et non liquefaciens β .

f) *B. pieris agilis*.

Section II. — a) *B. melolonthæ non liquefaciens* α , γ et ϵ .

b) *B. melolonthæ n. liq.* β et δ .

c) *B. pieris non liq.* α et *B. bombycis non liquefaciens*.

II. Diplocoques et Diplobacilles. — Caractérisés par l'absence de cils vibratiles ; coloration par la méthode de GRAM ; culture en gélose peu développée ; les cultures en bouillon s'éclaircissent plus ou moins rapidement ; gélatine non liquéfiée.

a) *Diplococcus liparis* et *pieris*.

b) *Diplococcus* et *Diplobacillus melolonthæ*. *Diplobacillus pieris*.

c) *Diplococcus bombycis*.

III. Bacilles. — Un seul représentant du groupe, *B. liparis*, dont les caractères sont les suivants : absence de cils vibratiles ; colorabilité par la méthode de GRAM ; culture abondante sur gélose ; très grande affinité pour les éléments phagocytants du sang des Insectes.

IV. Bacilles sporulés. — Un seul représentant : *B. hoplosternus*.

V. — Nous rangeons dans un groupe distinct, le *B. proteidis*, en raison de ses propriétés très particulières qui l'éloignent de tous les autres types : il est, en

effet, très sensible à l'action du sang de certaines Chenilles, et ses éléments se comportent comme des cellules très fragiles. Le *B. proteidis* est aussi caractérisé par la diversité de forme de ses éléments.

Les cinq groupes que nous venons de caractériser sommairement peuvent être considérés comme des genres ; d'après les règles générales de la nomenclature, chacun d'eux devrait avoir un nom particulier ; mais on sait qu'en Bactériologie, les règles de la nomenclature ne sont pas encore suffisamment fixées pour qu'il soit possible de les appliquer dans le cas particulier qui nous occupe ; nous conserverons donc provisoirement la nomenclature adoptée.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LA MORPHOLOGIE DES BACTÉRIES

D'après leur forme extérieure, on distingue les Coques, formées d'éléments arrondis ou ovoïdes ; les Bacilles, constitués par des éléments droits plus ou moins allongés ; les Spirilles, caractérisés par leur forme plus ou moins incurvée. Tous les intermédiaires existent entre ces trois groupes bien tranchés. Les microbes entomophytes que nous avons décrits dans ce chapitre appartiennent généralement au groupe des Coccobacilles, intermédiaire entre les Coques et les Bacilles. Ce groupe des Coccobacilles ne paraît d'ailleurs pas constituer une entité bien définie ; nous verrons, en effet, en étudiant la variabilité de la forme, que des éléments coccobacillaires peuvent donner naissance à de véritables Bacilles et même, à des filaments plus ou moins allongés et sinueux. Le groupe des *Coccus* est assez bien représenté chez les microbes entomophytes ; celui des Spirilles, par contre, ne possède encore aucun représentant.

Variabilité de la forme. — Pendant longtemps on a admis, et d'aucuns l'admettent encore, que la forme des Bactéries était constante ; mais à mesure qu'on pénètre plus avant dans le domaine inexploré de ces microorganismes, à mesure que l'on connaît mieux leur vie dans le temps et dans l'espace, on s'aperçoit que le dogme de la constance des formes n'est pas aussi intangible qu'on le croyait. Certains auteurs, comme NÆGELI, ont même cru devoir prendre la contrepartie de ce dogme, et n'ont pas craint d'affirmer que la forme des Bactéries était essentiellement variable et même, que toutes devaient très probablement dériver d'un type unique. Cette opinion n'a été partagée que par un petit nombre d'auteurs, dont ZOFF, par exemple, qui a cru avoir trouvé des preuves suffisantes, dans l'étude d'un cas particulier, celui du *Cladothrix dichotoma*, espèce filamenteuse isolée par COHN d'eaux impures. En fait, aucune preuve décisive n'a été donnée jusqu'ici du pléomorphisme chez les Bactéries. Cependant, il est indéniable que la forme de la cellule bactérienne peut se modifier suivant les milieux dans lesquels elle végète, mais cette modification n'est pas permanente et il suffit de placer la cellule dans le milieu primitif, pour lui voir reprendre sa forme normale. Tous les microbes ne présentent pas au même degré la faculté de changer de forme suivant le milieu dans lequel ils évoluent : la plasticité de

la cellule bactérienne varie, en effet, suivant l'espèce à laquelle elle appartient.

Nos recherches propres sur les microbes entomophytes, ont montré que la plupart des Coccobacilles changent plus ou moins de forme suivant l'Insecte dans la cavité générale duquel ils sont inoculés. Pour quelques espèces, ce changement est insignifiant et se traduit tout au plus par un allongement de la cellule ; pour d'autres, le changement est considérable et la cellule prend une forme telle, qu'on la croirait appartenir à une espèce différente de celle inoculée. Les cas les plus typiques que nous ayons observés, sont ceux du *Bac. pieris liquefaciens* α , *B. melolonthæ liquefaciens* γ , *B. lymantricola adiposus*.



Fig. 22.

1^o Cas de *B. PIERIS LIQUEFACIENS* α .

Dans le sang des chenilles de *Pieris brassicæ*, les éléments sont de forme coccobacillaire (fig. 22, 1) ; ils ne se colorent cependant pas aussi intensément aux

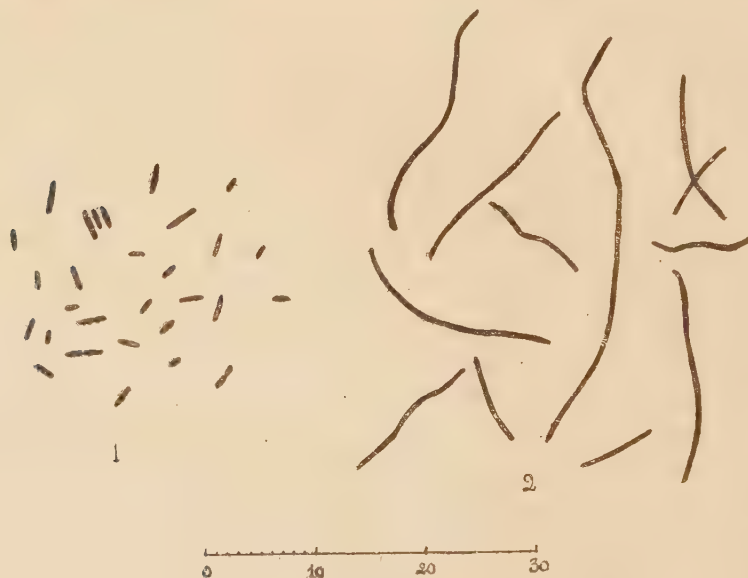


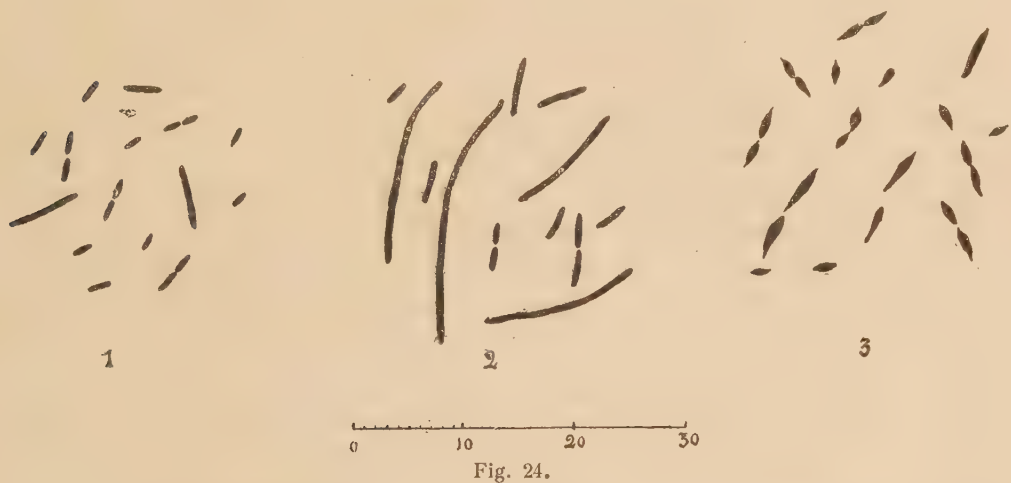
Fig. 23.

deux pôles que certains autres Coccobacilles, comme *B. melolonthæ liquefaciens* α , par exemple. Dans le sang des chenilles de *Vanessa urticæ* L., la forme des élé-

ments ne varie pas sensiblement (fig. 22, 2). Dans celui des chenilles de *Vanessa polychloros* L. (3), la longueur moyenne des éléments est sensiblement plus grande que dans le sang des deux autres espèces de chenilles ; on observe de même, un allongement des Bacilles dans le sang des chenilles d'*Euproctis chrysorrhœa* L. (fig. 23, 1). Enfin, dans celui des chenilles de *Lymantria dispar* L. (2), l'allongement des éléments est tel qu'ils perdent tout à fait l'aspect coccobacillaire et se transforment en véritables filaments plus ou moins sinueux, dont la longueur peut atteindre 40 et même 50 μ . (Pl. III, 1). Cette transformation considérable n'est cependant que superficielle et n'affecte en rien la vitalité ni les propriétés biochimiques du microbe ; les éléments reprennent rapidement la forme normale, dès qu'ils sont inoculés dans la cavité générale des chenilles de Piéride.

2° Cas du *B. MELOLONTHAE LIQUEFACIENS* γ .

Dans le sang du Hanneton, des chenilles d'*E. chrysorrhœa* L. (fig. 24, 1), ce Bacille apparaît sous forme d'éléments coccobacillaires assez allongés présentant quelquefois la coloration bipolaire, après coloration par les couleurs d'aniline ; quelques éléments ont tendance à s'allonger mais la grande majorité restent



courts. Dans le sang des chenilles d'*Agrotis segetum* Schiff., (fig. 24, 2) l'allongement des éléments est la règle ; quelques-uns même, prennent l'aspect filamenteux. Dans le sang des chenilles de *Lymantria dispar* L. (fig. 24, 3) les éléments changent complètement de forme : au lieu d'être arrondis aux extrémités, ils sont comme étirés ; en même temps, leur épaisseur s'accroît sensiblement ; on observe fréquemment aussi des *formes de croissance* ; ces formes feront l'objet d'une étude détaillée particulière (voir p. 137).

3° Cas du *B. LYMANTRICOLA ADIPOSUS*.

L'étude de ce cas est particulièrement intéressante ; les transformations morphologiques du *B. lymantricola adiposus* sont, en effet, plus profondes que celles des deux autres espèces dont il vient d'être question. En 1917, année où le

Bacille a été isolé, la forme normale est celle représentée dans la figure 25 (à gauche; à droite éléments dans le sang de Vers à soie); on observe quelques formes de croissance. A partir de 1919, le Bacille a tendance à s'allonger; il prend même l'aspect filamenteux dans le sang des chenilles d'*Agrotis segetum* Schiff., qui devient filant et visqueux lorsque ces chenilles sont en état d'infection avancée. La structure se modifie aussi considérablement: le

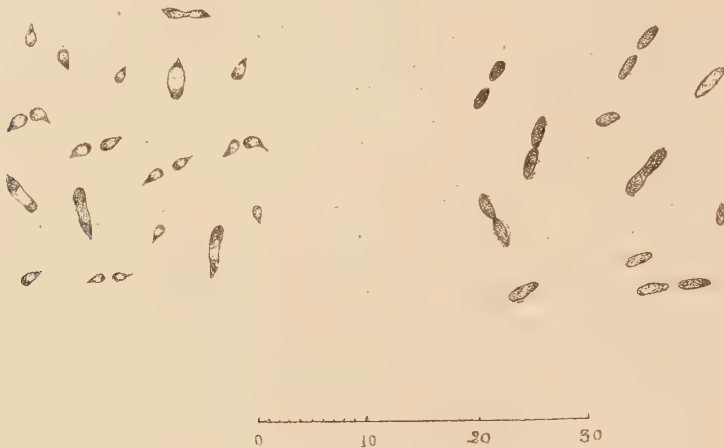


Fig. 25.

cytoplasme, homogène pendant les deux premières années, devient ensuite vacuolaire, ce qui donne au Bacille, une fausse apparence de microbe sporulé. L'apparition des formes de croissance, leur faciès, se modifient aussi très sensiblement, ainsi qu'on le verra dans le paragraphe suivant. Sur les milieux de culture artificiels, la forme des microbes est cependant peu modifiée. Mais c'est un fait d'observation courante, que la culture sur milieux artificiels atténue les différences morphologiques. Ainsi, les différents Coccobacilles que nous avons isolés au cours de nos recherches, sont très difficiles à reconnaître par le seul examen des frottis de culture et cependant, on ne peut guère les confondre en les observant dans le sang même des Insectes qu'ils parasitent. Donc, à ne considérer que les microbes de culture, on ne peut dire que le *B. lymantricola adiposus* a évolué depuis son isolement; mais si l'on compare les Bacilles primitifs vivant dans le sang des chenilles de *Lymantria dispar* L., avec les Bacilles actuels vivant dans les mêmes conditions de milieu, on est obligé de conclure à une mutation véritable; des caractères nouveaux et qui paraissent bien fixés, sont, en effet, apparus. L'espèce a évolué morphologiquement, et cette évolution est suffisante pour changer complètement le faciès général du Bacille dans le milieu naturel où il a été trouvé, ainsi qu'on peut s'en rendre compte par l'examen de la figure 45 et de la figure qui représente les formes de croissance du Bacille à ses différents âges. Dans ces conditions, il est logique de considérer les caractères morphologiques des Bactéries, en général, comme un critérium insuffisant pour la classification de ces microorganismes.

Un autre exemple de mutation nous a été fourni par le *Diplococcus melo-*

lonthæ. Primitivement, ce Coccus se présentait dans les cultures en bouillon, sous forme d'éléments arrondis, le plus souvent, isolés ou réunis par deux. Deux ans après son isolement, les cultures en bouillon ont complètement changé d'aspect et sont devenues filantes. Cette modification importante correspondait à une modification de la nature même du microbe : en effet, dans les nouvelles cultures, les éléments résultant de la division des coques, adhèrent assez fortement les uns aux autres, pour donner naissance à de longues chaînettes analogues à celles formées par les Streptocoques. Sans aller jusqu'à assimiler la variation du Diplocoque à une transformation de Staphilocoque en Streptocoque, on peut la considérer néanmoins comme une mutation véritable, susceptible d'infirmier la règle suivie pour nommer le microbe.

L'étude méthodique des variations morphologiques éprouvées dans le temps par les différents microbes que nous avons isolés, démontrerait probablement, que le nombre des cas de mutation n'est pas limité aux deux exemples que nous venons de citer. La plasticité de la cellule bactérienne est, en effet, beaucoup plus grande que celles des autres êtres mieux organisés. Cette plasticité, qui se manifeste aussi bien dans l'espace que dans le temps, n'est pas un des moindres obstacles qui s'opposent à l'établissement d'une classification rationnelle des Bactéries. Elle est aussi une source de confusion dans l'identification des espèces rencontrées dans la nature : beaucoup d'entre elles, en effet, sont décrites sous des noms différents, qui, en réalité, ne sont que de simples variations ou mutations d'une même espèce.

Formes de croissance et formes d'involution.

Toutes les Bactéries ne sont pas douées au même degré, de la propriété de donner naissance à des formes anormales dans les cultures ou dans le corps des Insectes inoculés. Ces formes anormales sont dites *formes de croissance* (« Wuchsformen » des auteurs allemands), lorsqu'elles se produisent dans les milieux neufs ou dans le corps d'êtres vivants contaminés depuis peu ; elles sont dites, *formes d'involution*, lorsqu'elles prennent naissance dans les vieilles cultures sur milieux artificiels. Nous avons eu assez fréquemment à observer les premières formes dans le sang d'Insectes inoculés avec nos différents microbes entomophytes ; sur milieux de cultures artificiels, par contre, les formes de croissance sont exceptionnelles. Parmi les espèces microbiennes qui donnent les formes les plus curieuses, nous pouvons citer : *B. liparis* ; *B. lymantricola adiposus* ; *B. pieris liquefaciens* α ; *B. melolonthæ liquefaciens* γ.

1° Cas de BACILLUS LIPARIS.

Normalement, ce Bacille se présente sous forme d'éléments plus ou moins allongés (fig. 26 ; à gauche, Bacilles jeunes ; à droite, Bacilles plus âgés), quelquefois droits, mais le plus souvent, légèrement coudés dans la partie médiane, comme le Bacille de la Diphtérie. Cultivé sur milieux sucrés, en particulier, sur gélose-ascite glucosée ou lévulosée, il donne naissance, dès les premières heures, à un certain nombre de formes géantes (fig. 27), renflées en massue à une seule de

leurs extrémités ou aux deux à la fois. Ces formes ressemblent assez à certaines formes d'involution du Bacille diphtérique, ainsi qu'on peut s'en rendre compte

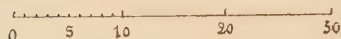


Fig. 26.

par l'examen des figures 27 et 28. La présence d'une ramification médiane n'a pas été observée sur milieux artificiels. Par contre, dans le sang des chenilles de *Pieris brassicae* L. en état d'infection, nous avons pu observer quelquefois l'ébau-



Fig. 27.



Fig. 28.



Fig. 29.

che d'une ramification, ou même de ramifications bien développées, non sur Bacilles en massue, mais sur des Bacilles ordinaires plus allongés et sensiblement plus gros que le type normal (fig. 29).

2° Cas du B. MELOLONTHE LIQUEFACIENS γ

Nous avons vu que dans le sang du Hanneton et des chenilles d'*Euproctis chrysorrhæa* L., les Bacilles se présentent sous forme d'éléments coccobacillaires arrondis aux extrémités et que, dans celui des chenilles de *Lymantria dispar* L., au moins au début de l'infection, les mêmes éléments différaient sensiblement d'aspect par leurs extrémités étirées. Quelques heures après l'inoculation (en général, vers la huitième ou dixième heure), on observe, dans le sang de ces dernières chenilles, un allongement presque général des Bacilles ; en même temps, leur épaisseur s'accroît sensiblement et leurs contours deviennent plus ou moins irréguliers (fig. 37). A une phase plus avancée de l'infection, on observe qu'un

certain nombre de Bacilles présentent un ou même deux renflements médians ou polaires (fig. 43) dont le diamètre peut atteindre 6 μ . Il semble que ces renflements absorbent toute la substance microbienne des prolongements bacilliformes : on voit, en effet, que ces prolongements se désorganisent rapidement et qu'ils se détachent bientôt du renflement. A ce stade, les renflements nagent librement dans le sang, mais ne sont pas mobiles comme les Bacilles qui leur ont donné naissance ; ils ressemblent à de véritables cellules ; nous verrons même, en étudiant la structure des Bacilles et de leurs formes de croissance, que ces cellules présentent dans leur masse une partie centrale colorable par les colorants nucléaires et qui paraît devoir être assimilée à un noyau (fig. 44). Lorsque la chenille inoculée est morte, les formes de croissance disparaissent peu à peu et on n'observe plus, dans le sang, que des Coccobacilles semblables à ceux des cultures sur milieux artificiels, c'est-à-dire, des Coccobacilles n'ayant même plus la forme caractéristique décrite plus haut.

3^e Cas du *B. LYMANTRICOLA ADIPOSUS*

Nous avons vu que cette espèce avait subi, depuis son isolement, de profondes transformations morphologiques et que les Bacilles actuels différaient très sensiblement des Bacilles primitifs ; l'aptitude à donner naissance à des formes de croissance s'est aussi profondément modifiée et ces formes elles-mêmes, ont changé notablement d'aspect. La première année de leur isolement (1917), les Bacilles inoculés dans la cavité générale des chenilles de *Lymantria*



Fig. 30.

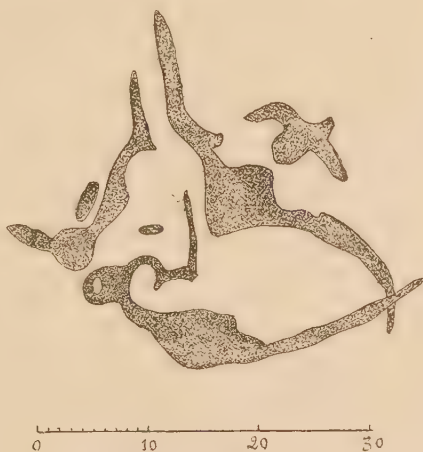


Fig. 31.

dispar L., donnaient naissance à des éléments coccobacillaires typiques (fig. 25) ; une très faible proportion d'entre eux, avaient tendance à s'allonger et à se renfler dans leur partie médiane. L'année suivante, dans le même milieu, l'aptitude à donner des formes de croissance s'est généralisée et les éléments coccobacillaires du type normal, ne représentent plus qu'une proportion très faible des microbes du sang, ainsi qu'on peut s'en rendre compte à l'examen de la microphotographie 2 de la Planche III et de la figure 30. Les formes de croissance ont pour origine

un renflement des Bacilles dans la partie médiane (fig. 31); contrairement à ce qu'on observe dans le cas précédent, les prolongements bacilliformes des renflements continuent de se développer, et donnent souvent naissance à des renflements ou des prolongements secondaires; l'ensemble constitue un véritable mycélium (microph. 3, Pl. III). Dans certains cas, les formes de croissance ont tendance à rester courtes; quelques-unes même, sont arrondies et dépourvues de prolongements bacilliformes (fig. 30 a).

Nous avons vu que le Bacille était devenu vacuolaire deux ans après son isolement. Les formes de croissance ont subi une transformation parallèle: elles présentent toutes une vacuole centrale, mais alors que les prolongements subsistaient et même continuaient de se développer, au cours des deux premières années, elles se résorbent dans les nouvelles Formes et les renflements arrondis nagent librement dans le sang. Ils sont dépourvus de mouvement propre, comme d'ailleurs les formes de croissance au début de leur formation. Ils disparaissent petit à petit du sang après la mort de la chenille et les Bacilles tendent à prendre l'aspect des Bacilles de culture. Les mêmes formes de croissance qui viennent d'être décrites se développent aussi dans le sang des chenilles d'*Agrotis segetum* Schiff. (fig. 47). La proportion de ces formes dans le sang des chenilles de *Lymantria*, est très inférieure à celle que nous avons observée dans le même milieu en 1918, c'est-à-dire au premier stade d'évolution du Bacille.

4^e Cas du B. PIERIS LIQUEFACIENS α

Jusqu'en 1921, ce Bacille n'a donné dans le sang des chenilles de *Lymantria dispar* L., que des filaments très allongés et plus ou moins tortueux; en 1919, nous observons cependant que quelques-uns d'entre eux présentent un bourgeonnement médian, mais le bourgeon ne se développe pas. En 1921, l'aptitude à donner naissance à des formes de croissance se généralise; l'origine de ces formes est semblable à celle que nous venons de décrire (fig. 46). Les renflements arrondis sont de toutes dimensions et perdent rapidement leurs prolongements filamenteux; ils sont quelquefois très nombreux dans le sang.

Les trois derniers Bacilles dont nous venons d'étudier les formes de croissance, sont pathogènes pour les chenilles dans le sang desquelles ces formes prennent naissance. Il existe aussi un certain nombre de Bacilles peu pathogènes pour ces mêmes chenilles, qui donnent également naissance à des masses arrondies plus ou moins volumineuses qui ressemblent beaucoup à celles que nous venons de décrire. Nous ne considérons cependant pas ces masses comme de véritables formes de croissance: nous verrons, en effet, qu'elles représentent des formes de dégénérescence des microbes et que leur vitalité est très atténuée à la suite de l'action nocive exercée par les liquides organiques de l'hôte (réaction d'immunité humorale).

Structure des Bactéries (1)

La question de la structure des Bactéries a fait l'objet de nombreuses controverses et suscité nombre de travaux importants, parmi lesquels, ceux de BUTSCHLI, SCHAUDINN, SWELLENGREBELL, GUILLIERMOND, PÉNAU, DOBELL, sont les plus connus. Nous ne ferons pas l'historique complète de la question, car cette étude dépasserait le cadre que nous nous sommes fixé ; nous résumerons brièvement les principales conclusions des travaux les plus marquants et exposerons, dans ses grandes lignes, l'état actuel de la question de la structure des cellules bactériennes.

Les auteurs les plus anciens considéraient les Bactéries comme des cellules très primitives dépourvues de noyau ; cette opinion a été peu à peu abandonnée et on ne met plus guère en doute aujourd'hui l'existence du noyau dans la cellule bactérienne. Cependant les opinions diffèrent sensiblement, lorsqu'il s'agit de préciser la forme et la structure de ce noyau : les uns admettent que la chromatine est irrégulièrement dispersée dans le cytoplasme et d'autres, qu'elle est condensée en un noyau typique comparable à celui de cellules mieux évoluées ; certaines soutiennent la thèse d'un arrangement déterminé des grains de chromatine dans la cellule et d'autres concilient les opinions contraires en admettant que le noyau évolue et peut passer de la forme condensée à la forme diffuse ou *vice versa*.

MEYER, puis VEJDOWSKY, ont soutenu la thèse du noyau typique différencié. Les arguments qu'ils ont fournis à l'appui de cette opinion paraissent irréfutables ; mais rien ne prouve que les espèces géantes étudiées par VEJDOWSKY, par exemple, sont de véritables Bactéries. Pour GUILLIERMOND, elles auraient même plus d'affinités pour les Champignons que pour les Bactéries ; c'est ce qui expliquerait le caractère hautement différencié de la structure du noyau chez ces microorganismes.

Les travaux de MENCL, de RAYMAN et KRUIS, confirment les résultats des travaux de VEJDOWSKY, mais les arguments de ces auteurs paraissent insuffisants ; d'autre part, d'après GUILLIERMOND, ils auraient commis des erreurs d'interprétation et décrit comme noyaux, les cloisons transversales au début de leur formation.

FEINBERG, par coloration de Microcoques et Bactéries avec la solution colorante de GIEMSA, a mis en évidence, dans la partie centrale des cellules, un granule ou un filament nettement différencié, qui représente le noyau ; ce noyau serait assez polymorphe mais de structure beaucoup plus simple que celle des noyaux décrits par VEJDOWSKY.

WEIGERT, puis BUTSCHLI et SCHAUDINN, n'admettent pas l'existence d'un noyau typique à chromatine condensée ; pour ces auteurs, la chromatine est, au contraire, dispersée sous forme de grains plus ou moins gros, dans toute la masse

(1) Je dois beaucoup à M. GUILLIERMOND dont l'érudition et l'esprit critique m'ont facilité grandement l'étude de la question.

du cytoplasme. Cette même structure a été observée aussi par DANGEARD chez *Chromatium okenii*. Au moment de la sporulation, on observe une sorte de conjugaison puis une condensation de la chromatine.

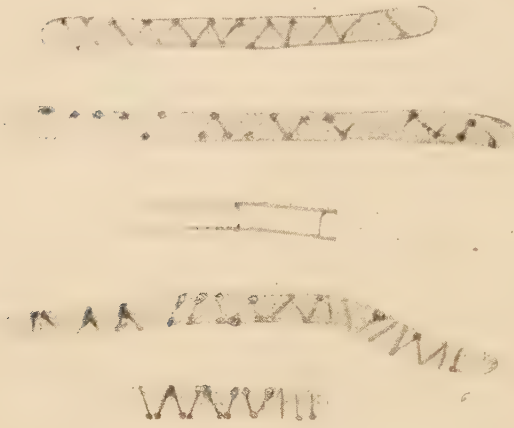


Fig. 32.

SWELLENGREBELL admet aussi que les grains de chromatine qui constituent le noyau, sont dispersés dans le cytoplasme, mais ces granulations ont une place déterminée dans la cellule; l'ensemble représente un véritable système chromidial de forme relativement constante que l'on peut considérer comme l'homologue du noyau des cellules plus évoluées. Ainsi, dans *B. maximus buccalis*, le système chromidial, analogue au système chromidial d'HERTWIG, se présente sous forme de granulations latérales réunies par des bandes transversales achromatiques (fig. 32, 1-3). La bande nucléaire, enroulée en spirale, se divise longitudinalement en deux moitiés et chaque moitié émigre dans la cellule-fille. Ce noyau spiralé présente une certaine analogie avec le système nucléaire d'*Opalinopsis sepiolæ* (GONNER) et *Fættingeria actinarum* (CAULLERY et MESNIL), ainsi qu'avec celui du *Trypanosoma balbiani*.

SWELLENGREBELL a décrit dans un Spirille, *Spirillum giganteum*, un système nucléaire analogue à celui décrit dans *B. maximus buccalis* (fig. 32; 4-5).

AMBROZ, étudiant la structure d'une espèce nouvelle, *Bacterium nitri*, a mis en évidence un filament spirale chromatophile, dont la forme et la structure présentent les plus grandes analogies avec celles des Bacilles et Spirilles étudiés par SWELLENGREBELL. Quelquefois, le système nucléaire affecte la forme en réseau. Dans les Bacilles très jeunes, on n'observe aucune différenciation nucléaire; cette même observation a été faite par le plus grand nombre des auteurs qui ont étudié la structure des microbes, ce qui donne à penser que le phénomène est d'ordre très général.

D'après les travaux d'AMATO, de PÉNAU et de DOBELL, la structure du noyau des Bactéries ne serait pas constante pour une même espèce : elle pourrait être à la fois du type diffus et du type condensé.

Les recherches d'AMATO sur un Bacille du Chou, sur *B. subtilis* et

GUILLIERMOND, d'après ses recherches propres sur *B. megatherium*, *B. radicosus*, *B. mycoides*, *B. arthrosporus*, *B. alvei*, admet comme BUTSCHLI et SCHAUDINN, que les Bactéries renferment de la chromatine plus ou moins mélangée avec le cytoplasme, différenciée quelquefois en petits grains épars au milieu du cytoplasme et condensée au moment de la sporulation, mais il n'accorde pas à ces formations différenciées, la signification de noyau.

B. mycoides, ont été faites par la méthode au bleu de crésyl-brillant de CÉSARIS-DEMELL. Dans les cellules jeunes, AMATO observe la présence constante d'un granule bien différencié qu'il considère comme le noyau condensé de la cellule (fig. 33, a). Ce noyau disparaît ensuite et la chromatine se résout en fines granulations qui se réunissent peu après pour donner naissance à des grains plus volumineux, périphériques (b). Ces grains forment ensuite une espèce de plaque équatoriale qui se diviserait transversalement, chaque moitié émi-grant dans chacune des cellules-filles et constituant un amas polaire (c); les amas polaires disparaîtraient pour donner naissance à des granules d'où naîtrait finalement la spore (d).

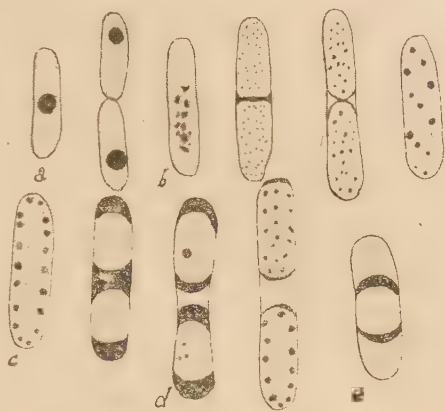


Fig. 33.

PÉNAU, dans son étude cytologique du *B. anthracis* et du *B. megatherium*, prétend avoir démontré l'existence d'un noyau typique, mais ce noyau se présente sous des aspects très différents suivant que l'observation est faite sur des cellules jeunes ou des Bactéries plus ou moins développées. Les plus jeunes cellules de *B. anthracis*, se colorent uniformément (fig. 34); puis apparaît un noyau vésiculeux (2 et 3; compter de gauche à droite) qui se transforme en noyau plein par condensation de la chromatine; ce noyau donne ensuite naissance à un réticulum basophile, disposé d'abord suivant des courbes (6), puis des bâtonnets arrondis aux extrémités (7-9); dans les derniers stades, stade sporogénèse et spore, le



Fig. 34.

noyau reprendrait l'aspect primitif, homogène et dense. Dans *B. megatherium*, PÉNAU décrit aussi un noyau typique, mais il observe, en outre, à un stade de développement, une formation basophile qu'il tendrait à considérer comme le chondriome de la cellule bactérienne.

Les travaux de DOBELL ont apporté une importante contribution à l'étude de la structure de la cellule bactérienne. Pour cet auteur, il est à peu près certain que toutes

les Bactéries sont nucléées; le noyau peut se présenter, pour une même espèce, à la fois sous la forme condensée (grain ou filament droit ou contourné) et sous la forme diffuse (chromidies éparses dans le cytoplasme). Ces différentes formes sont représentées dans la figure 35. Originellement, d'après DOBELL, le noyau

des Bactéries serait condensé, mais le parasitisme aurait pour effet de dissocier la chromatine.

Dans une note récente, PETIT, étudiant la cytologie de deux Bactéries géantes, conclut à l'existence d'un noyau diffus dans la cellule des Bactériacées.

Il ressort, de cette étude historique sommaire, que les auteurs qui ont étudié la structure des Bactéries, sont loin de s'accorder sur la forme du système nucléaire et sur la signification réelle des éléments chromatophiles de la cellule



Fig. 35.

bactérienne. Les faits qu'ils ont décrits, les hypothèses qu'ils ont émises pour les interpréter, varient souvent de l'un à l'autre; cette diversité d'opinion des cytologistes peut être une preuve de l'état d'incertitude dans lequel on se trouve pour expliquer la structure véritable des Bactéries; mais elle peut correspondre aussi à un état de choses réel; les divergences constatées dans la description et l'interprétation des faits, s'expliqueraient alors par l'extrême variété de structure de la cellule bactérienne et l'on ne devrait plus considérer cet élément comme une entité comparable aux cellules animales ou végétales,

mais comme une cellule d'un type très particulier, caractérisée par la grande plasticité de sa substance cytoplasmique et de son noyau. Nos recherches propres tendent à confirmer cette opinion.

Les différentes cellules bactériennes dont nous avons étudié la structure, sont toutes caractérisées par la difficulté d'obtenir régulièrement une bonne différenciation de la substance chromatophile; cette difficulté peut tenir à ce que la substance cytoplasmique se colore trop intensément et masque plus ou moins complètement la partie chromatophile de la cellule; elle peut tenir aussi au fait que cette substance n'existe pas toujours sous la forme condensée. La première hypothèse nous paraît plus conforme à la réalité que cette dernière; notre opinion est basée sur le fait que la différenciation, après coloration au GIEMSA, par exemple, est d'autant plus nette que la substance cytoplasmique de la cellule bactérienne se colore moins intensément.

Système nucléaire des Bacilles normaux.

Après simple coloration au GIEMSA, de frottis de sang d'Insectes en état d'infection, on réussit quelquefois à mettre en évidence des grains et trabécules chromatophiles, qui affectent, dans la cellule bactérienne, un arrangement déterminé. La différenciation est généralement plus difficile à réussir avec les colorants nucléaires habituels, hématoxyline ferrique ou hémateïne, par exemple.

1° B. PIERIS NON LIQUEFACIENS α

En étudiant l'immunité chez les Insectes, nous montrerons que ce Cocco-

bacille subit, dans le sang des chenilles de *L. dispar* L., des modifications morphologiques très curieuses, qui aboutissent finalement à la constitution de masses énormes, plus ou moins régulièrement arrondies. Cette transformation est précédée d'un stade de développement normal. En colorant à l'hématoxyline ferrique, un frottis de sang de chenille inoculée depuis 6 heures, nous avons obtenu une coloration très nette de la substance chromatophile des cellules bactériennes; la figure 36 reproduit l'arrangement caractéristique de cette substance dans la masse du Bacille; cet arrangement présente beaucoup d'analogies avec celui décrit par SWELLEN-GREBELL, dans les cellules de *B. maximus buccalis*; mais il est visible, dans certains éléments tout au moins, que

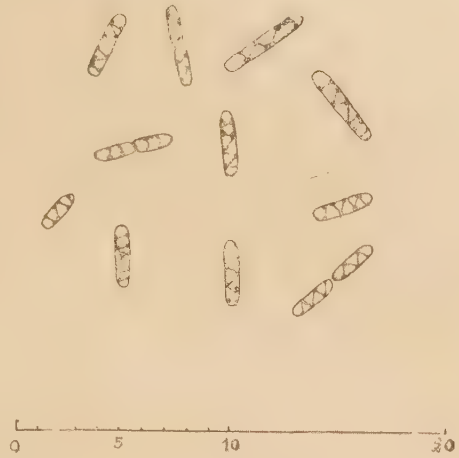


Fig. 36.

les trabécules sidérophiles ne font pas partie d'un filament spirale. Les cellules les plus simples renferment deux filaments transverses sidérophiles; chaque filament semble partir d'un point de la membrane cellulaire, qui se colore intensément par l'hématoxyline. Cette disposition paraît caractériser les éléments les plus jeunes.

Lorsque nous étudierons les transformations du Bacille dans le sang des chenilles de *Lymantria dispar* L., en état d'immunité, nous verrons que les doubles filaments chromatophiles se retrouvent dans la plupart des Bacilles qui commencent à se développer (fig. 75); chaque filament occupe une situation polaire dans la cellule. Lorsque la cellule est en voie de développement, les filaments se divisent ainsi que les grains chromatophiles pariétaux, mais la division n'est pas toujours simultanée; deux filaments voisins peuvent ainsi rester unis par une de leurs extrémités et la disposition générale qui résulte de cette particularité, multipliée plusieurs fois dans la cellule, rappelle celle d'un filament spirale. Si la cellule s'allonge avant de se diviser elle-même, le nombre des filaments transverses peut dépasser de beaucoup le chiffre normal 2; c'est ce qu'on observe dans le cas du *B. pieris non liquefaciens* α. Beaucoup d'autres espèces qui conservent dans le sang l'aspect coccobacillaire ne renferment que deux ou quatre filaments chromatophiles.

2° *B. MELOLONTHÆ LIQUEFACIENS* γ.

Dans le sang de la plupart des Insectes, cette espèce conserve la forme coccobacillaire normale; dans celui des chenilles de *L. dispar* L., au contraire, elle donne le plus souvent naissance à des formes géantes, d'abord plus ou moins allongées, puis arrondies. L'examen cytologique des formes de début donne des résultats qui confirment ce que nous avons dit au sujet de la structure du *B. pieris*

non liquefaciens α . Les Bacilles les plus courts renferment deux doubles filaments et doubles grains chromatophiles pariétaux (fig. 37); les filaments ne sont pas toujours bien visibles. A mesure que les éléments s'allongent, les grains et fila-



Fig. 37.

ments se divisent et l'ensemble constitue un système chromatophile analogue à ceux des Bacilles étudiés par SWELLEN-GREBELL.

En étudiant la cytologie des formes de croissance, nous verrons que la substance chromatophile de la cellule bactérienne peut être condensée en une masse homogène qui affecte la forme d'un noyau plus ou moins allongé (fig. 43). La présence d'éléments à substance chromatophile condensée n'est pas spéciale au *B. melolonthae liquefaciens* γ ; la plupart des autres Coccobacilles semblent former de tels éléments, ce qui donne à penser qu'ils représentent effectivement un stade particulier de l'évolution des Bacilles; mais nous ne savons rien de leur signification morphologique véritable.

3^o BACILLUS HOPLOSTERNUS.

Il est assez difficile d'obtenir une bonne différenciation de la substance chromatophile, par le colorant de GIEMSA, en raison de l'intensité avec laquelle se colore toute la masse du microbe. Lorsque cette différenciation se produit dans de bonnes conditions, la substance chromatophile apparaît colorée en pourpre au milieu du cytoplasme coloré en bleu pâle. La figure 38 représente différents aspects de cellules ainsi colorées; ces cellules proviennent d'une culture sur gélose ensemencée avec vieilles spores et gardée sept heures à l'étuve à 37°. L'arrangement dans la cellule, de la substance chromatophile, diffère notablement de celui qui caractérise les cellules étudiées précédemment; ainsi la disposition en filaments transversaux est relativement peu fréquente; le plus souvent, la substance chromatophile forme dans la partie centrale de la cellule, de petites masses bien colorées, quelquefois simples (fig. 38, *a*), mais généralement doubles (b) ou étirées en haltères (c). Quelquefois aussi, la substance chromatophile est sous forme de petits grains qui paraissent dispersés sans ordre dans la masse du cytoplasme (d). Enfin, on observe, comme dans le cas du *B. melolonthae lique-*



Fig. 38.

faciens γ, la présence d'éléments plus allongés que les Bacilles normaux, dans lesquels la substance chromatophile est condensée en une sorte de noyau allongé dans le sens de la longueur (e). Peut-être ces formes représentent-elles des stades de repos de la cellule bactérienne, cependant elles peuvent se diviser ; la figure 38 représente deux de ces cellules en voie de multiplication (f) ; on voit que la division s'est effectuée par la partie médiane de la masse chromatophile ; les deux masses qui résultent de la division de la masse primitive occupent les deux extrémités amincies des cellules-filles qui se font face.

Il est possible que les aspects si variés présentés par les cellules de *B. hoplosternus* ne représentent, en réalité, que des stades plus ou moins évolués de ces Bacilles. Si l'on examine, par exemple, des Bacilles résultant directement de la germination des spores, la structure de la cellule apparaît beaucoup plus uniforme.

La figure 39 représente les éléments d'une culture de quatre heures obtenue avec des spores de deux ans ; la différenciation est obtenue par coloration au Giemsa et régression à l'alcool absolu ; on distingue, dans les spores en germination, une masse centrale chromatophile qui se divise ensuite



Fig. 39.

avant l'apparition de la cloison cellulaire ; les éléments simples issus directement de la spore sont ainsi munis de deux masses chromatophiles plus ou moins aplaties transversalement ; les doubles masses se divisent ensuite, puis la division cellulaire suit peu après.



Fig. 40.

La structure des Bacilles asporogènes présente, comme celle des Bacilles normaux, des particularités que l'on met facilement en évidence par coloration vitale au bleu de méthylène (fig. 40). On distingue, dans la partie médiane des éléments, des espèces de noyaux fortement colorés en bleu, qui ne sont pas comparables aux granules réfrigérants intracellulaires

qui se rencontrent dans les Bacilles avant la formation de la spore ; ils rappellent, par contre, ceux que l'on met en évidence dans les Bacilles jeunes après coloration au Giemsa. Ils sont souvent par deux dans les articles. On peut remarquer aussi les deux points latéraux opposés fortement colorables, qui sont le premier indice du cloisonnement du Bacille.

4° DIPLOCOCCUS BOMBYCIS

Nous avons pu obtenir une bonne différenciation de la substance chromatophile de ce microbe, en colorant au Giemsa un frottis de sang d'*E. chrysorrhoea* L. infectée depuis peu avec microbes de culture. Comme chez les Coccobacilles, on constate la présence de doubles bandes transversales chromatophiles. Nous

avons représenté plusieurs de ces cellules à un très fort grossissement, dans la figure 41.



Fig. 41.

5° B. LYMANTRICOLA ADIPOSUS

Nous avons dit, en étudiant les caractères morphologiques des Bacilles, que cette espèce était caractérisée, actuellement, par la structure vacuolaire des éléments bactériens. En colorant au

Giemsa, un frottis de

sang d'*Agrotis segetum* Schiff. infectée, on met en évidence, dans la plupart des cellules microbiennes, une sorte de noyau plus ou moins allongé (fig. 42 a); dans certains éléments, la substance chromatophile est moins condensée (b); mais la condensation est ici la règle, alors que dans le cas de *B. pieris non liquefaciens* z., c'était l'exception. On peut noter toutefois que ce dernier Bacille a été examiné six heures seulement après l'inoculation, alors que la préparation qui nous a servi pour caractériser la structure du *B. lymantricola adiposus*, est un frottis de sang de chenille en état d'infection avancée.



Fig. 42.

Système nucléaire des Bacilles anormaux. Formes de croissance et formes involutives.

1° B. MELOLONTHAE LIQUEFACIENS γ

Ce Coccobacille, pendant les premières années de culture sur milieux artificiels, se transformait rarement en masses géantes dans le sang des chenilles de *L. dispar* L.; mais depuis 1921 il se montre beaucoup plus polymorphe; il n'est pas rare, maintenant, d'observer dans le sang des chenilles en état d'infection, la présence de gros éléments plus ou moins allongés, souvent renflés dans leur partie médiane ou aux extrémités. Dans les formes très allongées, après coloration au Giemsa, on constate l'existence de filaments transversaux disposés, semble-t-il, sans ordre défini: nous avons expliqué plus haut l'origine de cette disposition. Les masses arrondies issues des éléments

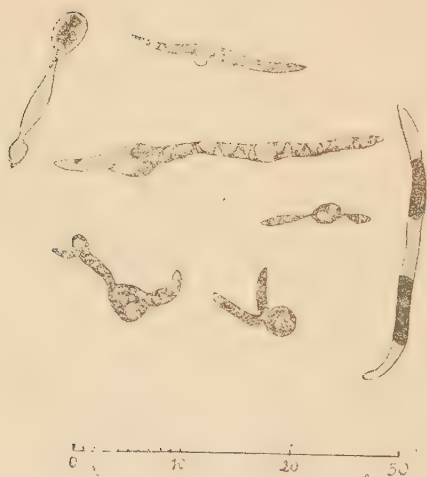


Fig. 43.

bacilliformes se présentent, après coloration, comme de véritables cellules dans l'intérieur desquelles on distingue généralement une masse de grosseur ou de texture variables, ou des grains chromatophiles en nombre plus ou moins grand (figure 43). Les mêmes masses ou grains chromatophiles apparaissent très nettement après coloration à l'hématéine ou à l'hématoxyline au fer. S'agit-il d'un noyau véritable? Il n'est guère possible de répondre affirmativement si on donne

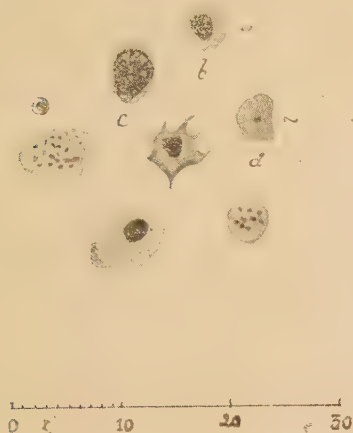


Fig. 44.

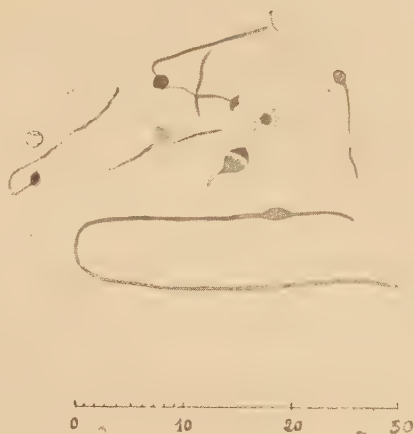


Fig. 45.

au mot noyau la signification précise que lui donnent les cytologistes : en effet, sa force est des plus variables et le rapport entre la masse de la substance chromatophile et celle de la substance cytoplasmique varie d'un élément à un autre (comparer par exemple les éléments *a*, *b*, *c* de la figure 44). Cependant, d'après les réactions colorantes, on ne peut guère mettre en doute que les masses et grains différenciés ne soient constitués en grande partie par de la chromatine.

2° B. PIERIS LIQUEFACIENS α

Nous avons vu que ce Bacille se transformait généralement, dans la cavité générale des chenilles de *L. dispar* L., en longs filaments très minces (fig. 23). Dans certains cas, ces filaments peuvent se résorber complètement pour donner naissance à des masses arrondies de grosseur variable (fig. 45). En général, le nombre des masses géantes qui se forment au cours d'une infection est relativement peu élevé; dans un cas cependant la plus grande partie des filaments en suspension dans le sang d'une chenille infectée sont disparus après avoir donné naissance à un nombre considérable de masses de toutes grosseurs, et de forme et structure très variables. Nous avons représenté, dans la figure 46, les principaux types rencontrés sur un frottis de sang coloré au Giemsa. La substance

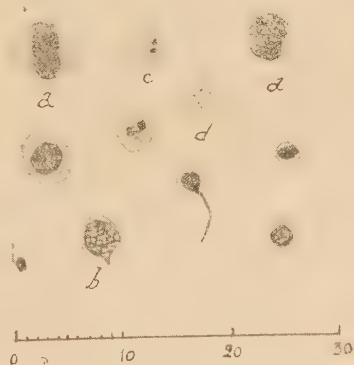


Fig. 46.

chromatophile de ces masses, se présente sous la forme condensée (*a*) ou diffuse (*c* et *d*) ou même fibrillaire (*b*); on peut remarquer la grande disproportion qui existe, dans certaines masses, entre la substance chromatophile et la substance cytoplasmique; si l'on admet que la proportion entre ces deux substances est relativement constante dans les éléments bacilliformes, la disproportionnalité constatée dans certaines masses, doit vraisemblablement résulter du fait que la substance chromatophile des éléments ne passe qu'en partie dans ces masses.

3° *B. LYMANTRICOLA ADIPOSUS*

Dans la cavité générale des chenilles d'*Agrotis segetum* Schiff., ces Coccobacilles donnent souvent naissance à des masses arrondies dont la structure est vacuo-

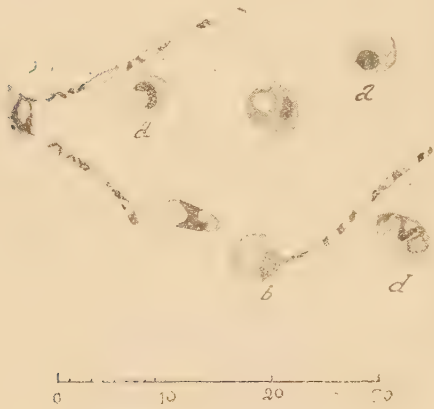


Fig. 47.

laire comme celle des cellules normales (fig. 47). La substance chromatophile, très nettement différenciée après coloration au Giemsa, à l'hématéine ou l'hématoxyline ferrique, se présente sous forme de masse homogène (*a*) ou fibrillaire (*b*). Elle a pour origine la substance chromatophile de l'élément bacilliforme qui donne naissance à la masse géante; cette substance, ainsi qu'on peut le voir dans la figure, paraît émigrer simplement dans l'intérieur de la masse. On peut constater que la structure des longs filaments représentés dans la figure est différente de celle que nous avons décrite précédemment (fig. 42); au lieu d'être condensée, la substance chromatophile est répartie suivant des filaments transversaux simples ou doubles; l'arrangement est donc le même que celui de la substance chromatophile des cellules normales de *B. melolonthae liquefaciens* γ.



Fig. 48.

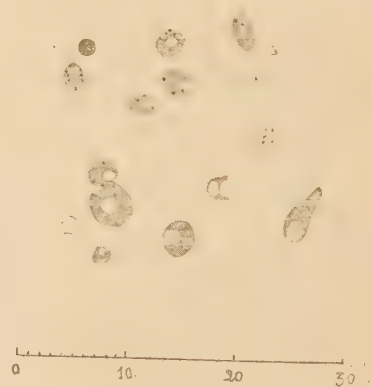


Fig. 49.

Les éléments bacilliformes et les masses géantes issues de ces éléments ne renferment pas seulement de la substance chromatophile, mais aussi des grains

métachromatiques que l'on met facilement en évidence après coloration au bleu polychrome. Le nombre de ces grains et leur disposition dans la cellule varient beaucoup d'un élément à un autre, ainsi qu'on peut le constater dans les figures 48 et 49.

Les conclusions que l'on peut tirer de nos faits d'expérience sont en faveur d'une structure polymorphe de la cellule bactérienne : nous admettons que cette cellule est pourvue d'un système nucléaire différencié, caractérisé, comme le noyau des cellules ordinaires, par la présence de chromatine; morphologiquement, il n'existe aucun rapport entre les deux noyaux; celui de la cellule bactérienne est caractérisé avant tout par sa très grande plasticité. Parmi toutes les formes possibles d'arrangement de la chromatine, il en est une qui paraît se reproduire plus fréquemment que toute autre : c'est la disposition en bandes transversales, celles-ci groupées généralement par paires. Nous ne savons rien du rôle fonctionnel de ce noyau primitif.

CHAPITRE II

ÉTUDE DE L'INFECTION CHEZ LES INSECTES

La septicémie est la forme normale de l'infection chez les Insectes. Aucune autre forme ne paraît avoir été signalée jusqu'ici et l'on ne connaît pas de microbe entomophyte capable, comme le Bacille diphtérique ou le Méningocoque, par exemple, d'engendrer une infection localisée à un tissu particulier et susceptible, néanmoins, d'entraîner la mort de l'individu. La septicémie est caractérisée par l'envahissement général du sang et de tous les tissus par le microbe qui détermine l'infection.

KRASSILSTSCHIK est l'un des premiers auteurs qui s'occupa de l'étude des maladies infectieuses des Insectes. Nous avons déjà fait mention du mémoire publié en 1893 sur deux maladies nouvelles du Ver blanc, la Graphitose et la Septicémie; la première, caractérisée par la couleur grisâtre plus ou moins foncée de la larve, dont l'aspect rappelle assez celui du graphite poli; la deuxième, par la couleur brun-foncée que prend le Ver blanc infecté. Toutes deux sont du type septicémique. La virulence des microbes qui causent ces deux maladies a été spécialement étudiée par l'auteur, sur Vers à soie et sur larves de Lamellicornes. Les conclusions de ses nombreuses expériences ne paraissent avoir été confirmées par aucun des auteurs qui ont eu l'occasion d'étudier la virulence des microbes chez les Insectes. Nos recherches propres ne nous ont également pas permis de vérifier l'exactitude des conclusions de KRASSILSTSCHIK. Nous les transcrivons donc à titre documentaire.

1° Pendant la mue, l'action du microbe baisse considérablement;

2° La force meurtrière des microbes, d'abord assez élevée (pendant la pre-

mière période) tombe au commencement de la deuxième période et de là se renforce sans cesse, avec les passages, jusqu'à la cinquième période.

3° Le virus de nos microbes, presque nul une ou deux heures avant la mort des Vers à soie, devient actif vers une demi-heure avant la mort puis il s'atténue sensiblement.

KRASSILTSCHIK n'a pas réussi à contaminer les larves saines de Hanneton par la voie digestive ; en les plaçant en contact avec des cadavres infectés, il n'a pas eu de meilleurs résultats ; cependant, par badigeonnage des larves avec matière infectante, les résultats furent « plus précis » ; enfin, par inoculation, l'infection fut la règle.

Le seul exemple connu de microbe susceptible d'infecter *per os* certains Insectes, est le *Coccobacillus acridiorum* trouvé par d'HÉRELLE au Mexique, lors d'une violente épidémie qui décima les invasions de Sauterelles en 1911. Ce microbe détermine, chez le Criquet, une véritable dysenterie qui se manifeste par la production d'une sanie noire que l'on peut faire sourdre en pressant l'abdomen de l'Insecte. C'est là, d'ailleurs, le principal indice qui a guidé l'auteur, comme d'autres expérimentateurs, dans l'appréciation de la mortalité déterminée dans la nature, par la contamination artificielle.

Pour obtenir un taux suffisant de mortalité, il est nécessaire d'exalter la virulence du microbe. D'HÉRELLE fait à ce sujet les recommandations suivantes : partir d'une culture jeune en bouillon, obtenue à la température ambiante, et inoculer une série de Sauterelles dans l'abdomen. Dès que les premiers Insectes sont morts, ou mieux, agonisants, presser l'abdomen et faire sourdre une gouttelette noirâtre qui, plus ou moins diluée, servira à inoculer une nouvelle série de Sauterelles. Inoculer ainsi un certain nombre de séries en diluant chaque fois davantage la gouttelette noirâtre. Vers la dixième ou douzième série, le maximum de virulence est atteint. « Un virus, à son maximum d'exaltation, injecté à une Sauterelle, à la dose de 1/100^e de centimètre cube, produit la diarrhée caractéristique en deux heures, et la mort, une heure plus tard. » D'HÉRELLE recommande aussi de choisir, pour l'inoculation, les Insectes qui succombent le plus vite à l'infection.

En 1915, il indique un nouveau procédé pratique pour conserver la virulence du Coccobacille : ce procédé consiste à choisir des cadavres frais de Criquets ou de Sauterelles infectés, à les dessécher et les réduire en poudre ; cette poudre est utilisée pour la préparation du matériel d'infection ; elle peut être conservée très longtemps, même d'une année à l'autre ; par ce procédé, la virulence du microbe est très vite récupérée.

Edm. SERGENT a modifié la première méthode de D'HÉRELLE en intercallant, entre chaque passage, une culture sur gélose. Le maximum de virulence serait plus vite atteint par ce procédé ; d'autre part, il aurait l'avantage de permettre chaque fois le contrôle de la pureté du virus inoculé. A ce point de vue, il nous paraît sensiblement plus rigoureux que le procédé de D'HÉRELLE, puisqu'il diminue les risques d'infection secondaire.

D'autres expérimentateurs ont modifié plus ou moins ces différents procédés d'exaltation de la virulence ; nous reviendrons sur les résultats pratiques de leurs expériences, en étudiant l'utilisation pratique des microbes entomophytes dans la lutte contre les Insectes nuisibles.

Nos recherches propres ont porté sur tous les microbes étudiés au cours du premier chapitre. Quelques-uns d'entre eux ont un pouvoir pathogène élevé, comparable à celui du *Coccobacillus acridiorum* ; aucun d'eux, cependant, n'est capable de provoquer la mort des Insectes par la voie digestive, même de ceux qui offrent le moins de résistance à l'infection.

Deux facteurs d'égale importance sont à considérer dans l'étude de la virulence : le facteur microbe et le facteur hôte. La virulence d'un microbe donné pour un Insecte donné, pourrait être exprimée par un rapport simple $\frac{p}{h}$, p représentant la puissance de multiplication du parasite, h , la résistance de l'hôte à l'infection, si ces deux valeurs étaient des constantes. En réalité, p et h varient dans de grandes limites et, de plus, les variations de l'une entraînent nécessairement des modifications plus ou moins étendues de l'autre valeur sans que, néanmoins, le sens et l'étendue de ces dernières correspondent à ceux des variations de la première valeur. Le rapport $\frac{p}{h}$ est donc loin de représenter une valeur fixe même lorsqu'il s'agit d'un parasite donné vivant dans un hôte donné ; en fait, sa valeur change à chaque instant parce que les conditions de la vie du microbe et de son hôte varient constamment. Comme il est impossible, avec les moyens d'investigation dont on dispose, de mesurer ces variations, on comprend que la détermination du rapport $\frac{p}{h}$ à un moment donné soit aussi impossible. En pratique, on mesure la virulence par le temps qui s'écoule entre le moment de l'inoculation et la mort de l'hôte, mais il est évident que les valeurs ainsi obtenues ne donnent qu'une idée très imparfaite de la virulence telle que nous l'avons définie.

La puissance de multiplication du microbe, représentée par h dans le rapport qui exprime la virulence, est soumise à l'influence de facteurs dont la plupart sont inconnus ; l'expérimentateur ne peut donc agir sur eux, de même qu'il n'en peut prévoir les effets. D'un autre côté, la force de résistance de l'hôte varie suivant des causes mal déterminées. L'étude de la virulence ne peut donc donner de résultats complets dans l'état actuel de nos connaissances ; seule la détermination des causes encore mystérieuses qui influent sur la vitalité des microbes et de leurs hôtes permettra d'obtenir une précision suffisante.

Le facteur microbe.

Le microbe pathogène agit principalement par les toxines qu'il sécrète ; telle est du moins, la thèse généralement soutenue aujourd'hui pour expliquer l'altération des cellules et tissus des animaux supérieurs à la suite de l'infection microbienne. Cette thèse est d'autant plus forte, qu'elle s'appuie sur des faits expérimentaux indiscutables : on est arrivé, en effet, à isoler les toxines sécrétées par la plupart des Bactéries pathogènes et à reproduire expérimentalement les

lésions caractéristique, causées par ces Bactéries. A cet égard, les exemples classiques du Bacille diphtérique et du Bacille tétanique, sont des plus démonstratifs. En ce qui concerne les Invertébrés en général et les Insectes en particuliers, l'influence des toxines est plus discutable ; si cette influence est réelle, elle ne peut être que très secondaire, car la mort des Insectes contaminés ne survient qu'à la suite d'une pullulation des microbes dans le sang et les tissus. Cette mort apparaît bien plus comme le résultat d'une suppression générale des fonctions vitales de l'hôte, par la multiplication exagérée du parasite dans le milieu où se font les échanges, que par empoisonnement véritable et destruction par les toxines de cellules indispensables à la vie de l'Insecte. On ne peut, en effet, citer aucun exemple d'infection comparable à ceux qu'on observe généralement chez l'homme et les animaux supérieurs. Nous considérons donc comme négligeable, l'influence pathogène des produits sécrétés par les microbes entomophytes.

Influence de la température.

Chez les Vertébrés à température constante, ce facteur ne joue qu'un rôle très secondaire dans les variations de vitalité des microbes d'infection. Chez les Invertébrés, par contre, il est à prévoir que le rôle de la température est des plus importants, en raison des variations considérables de ce facteur pendant le cours de l'infection. Ces variations ont une influence directe sur la vitalité du microbe, mais elles ont aussi leur répercussion sur la résistance de l'hôte ; la résultante de toutes ces actions se manifeste par un accroissement ou une diminution de la valeur du rapport $\frac{p}{h}$.

Dans leur compte rendu d'« essai de destruction du *Schistocerca peregrinae* au Maroc par le *Coccobacillus acridiorum* du D^r d'HÉRELLE, VÉLU et BOUIN ont bien mis en évidence l'influence de la température sur les variations de la virulence du Coccobacille pour cet Insecte. Ces variations, qui étaient considérables d'une série de Criquets inoculés (en vue des passages) aux suivantes, étaient dues, sans aucun doute, aux changements diurnes de la température extérieure ; « pendant les nuits froides de mai, la mort des Criquets inoculés ne survenait qu'au bout de 8, 9 et quelquefois même 10 heures ; alors que pendant les heures parfois très chaudes de la journée, les malades succombaient en 3 ou 4 heures. »

Cette influence de la température doit être considérée comme très importante dans la conduite des expériences de contamination artificielle. Dans les pays continentaux, où les variations diurnes de la température sont le plus souvent très brusques et considérables, la propagation des épidémies artificiellement créées peut être entravée à la suite d'un refroidissement prolongé. Même dans les pays chauds, et principalement dans les régions montagneuses, les variations de la température peuvent être assez grandes pour modifier dans de grandes proportions le taux de mortalité des Insectes artificiellement contaminés. Il n'est pas impossible que l'influence de ce facteur naturel soit une des raisons.

qui expliquent la divergence des résultats obtenus par les principaux expérimentateurs de la méthode préconisée par d'HÉRELLE comme moyen de lutte contre le Criquet.

Influence de l'âge de l'Insecte.

Cette influence, étudiée par VELU et BOUIN sur les Criquets, serait loin d'être négligeable et il y aurait lieu d'en tenir compte dans la conduite des expériences de contamination artificielle. D'après ces auteurs, « un Bacille très virulent pour un stade donné, l'est beaucoup moins pour un stade plus élevé. » D'où la conclusion suivante : « Il est indispensable, pour la préparation des bouillons, de se servir d'un virus obtenu à partir de Criquets du même stade ou d'un stade plus élevé que ceux que l'on veut contaminer. »

N'ayant jamais pu confirmer dans nos expériences les conclusions de VELU et BOUIN, nous les considérons comme s'appliquant spécialement à l'action du *Coccobacillus acridiorum* sur les Criquets.

Influence des autres facteurs.

Ces autres facteurs constituent les causes encore inconnues qui modifient, dans un sens ou dans un autre, la virulence d'une Bactérie à la suite de passages répétés dans l'organisme d'individus appartenant à une même espèce. Le plus souvent, le sens de la modification est positif, mais il peut arriver aussi, au cours des passages successifs, qu'il devienne brusquement négatif sans qu'il soit possible de déterminer la cause d'un tel changement. En général, la virulence s'accroît jusqu'à un maximum, puis reste sensiblement stationnaire quel que soit le nombre des passages effectués à partir de ce moment : à cet état d'exaltation, le virus est dit : *virus fixe*.

Ces notions sont classiques chez les Vertébrés; elles reposent d'ailleurs sur de nombreuses expériences; on les admet aussi chez les Invertébrés, mais les expériences démonstratives font complètement défaut. On trouve cependant quelques données intéressantes, dans les mémoires publiés par d'HÉRELLE et les expérimentateurs de sa méthode de lutte contre les Criquets.

Nous avons voulu nous rendre compte, par des expériences aussi précises que possible, de l'exactitude des lois concernant l'exaltation de la virulence chez les Insectes. Ces expériences ont porté sur nos espèces les plus pathogènes, en particulier : sur *B. melolonthae liquefaciens* α et *B. lymantricola adiposus*.

1° Exaltation de la virulence de *B. MELOLONTHAE LIQUEFACIENS* α

Les passages ont été faits par chenilles d'*Euproctis chrysorrhæa* L. Six de ces chenilles ont été inoculées le 18 mai à 21 heures, avec une gouttelette d'une émulsion opalescente obtenue en diluant dans de l'eau physiologique, une parcelle de culture sur géloseensemencée le 3 avril.

Deux des chenilles inoculées sont mortes infectées le lendemain à 6 heures, trois autres à 18 heures et la dernière à 19 heures. Le sang de cette dernière a servi à inoculer une nouvelle série de six chenilles. Nous rappelons que la gout-

Numéro de l'Expérience	Date et Heure	Température	DURÉE DE LA MALADIE				DURÉE MOYENNE			
			Dilution 1/100 ^e	Dilution 1/1.000 ^e	Dilution 1/10.000 ^e	Dilution 1/100.000 ^e	Dilution 1/100 ^e	Dilution 1/1.000 ^e	Dilution 1/10.000 ^e	Dilution 1/100.000 ^e
I 1 ^{er} passage	19 mai 19 h.	jour 17°2 nuit 10°2 moy. 15°1	1 ch. 19 h 1/2 2 ch. 23 h. 1 ch. 26 h	1 ch. 24 h. 1 ch. 30 h.	4 ch. 34 h.		22 h. 1/2	25 h. 1/2	34 h.	
II 2 ^e passage	20 mai 19 h.	jour 17°6 nuit 10° moy. 13°8	4 ch. 24 h.	3 ch. 26 h. 1 ch. 28 h.			24 h.	26 h. 1/2		
III 3 ^e passage	21 mai 21 h.	jour 20°1 nuit 10°5 moy. 15°3	4 ch. 21 h.	1 ch. 21 h. 1/2 1 ch. 23 h. 1/2 2 ch. 26 h			21 h.	24 h.		
IV 4 ^e passage	22 mai 20 h.	jour 21°2 nuit 11°2 moy. 16°2	3 ch. 22 h. 1 ch. 26 h.	2 ch. 23 h. 1 ch. 24 h. 1 ch. 26 h.			23 h.	24 h.		
V 5 ^e passage	23 mai 19 h	jour 21° nuit 13°4 moy. 17°6	2 ch. 22 h. 2 ch. 24 h.	2 ch. 23 h. 1/2 2 ch. 24 h.			23 h.	24 h.		
VI 6 ^e passage	24 mai 18 h. 1/2	jour 22°8 nuit 14°8 moy. 18°8	4 ch. 22 h. 1/2	3 ch. 22 h. 1/2 1 ch. 25 h.		3 ch. 37 h. 1/2 1 ch. 39 h. 1/2	22 h. 1/2	23 h.		38 h.
VII 7 ^e passage	25 mai 18 h.	jour 22°4 nuit 15° moy. 18°7	4 ch. 23 h.	4 ch. 23 h.			23 h.	23 h.		
VIII 8 ^e passage	26 mai 18 h.	jour 21°2 nuit 15°8 moy. 18°5	4 ch. 19 h. 1/2	1 ch. 19 h 1/2 1 ch. 22 h. 2 ch. 24 h. 1/2			19 h. 1/2	22 h. 1/2		
IX 9 ^e passage	27 mai 14 h. 1/2	jour 21°5 nuit 13°5 moy. 17°5	4 ch. 21 h.	3 ch. 23 h. 1 ch. 24 h. 1/2			21 h.	23 h. 1/2		
X 10 ^e passage	28 mai 12 h.	jour 20°2 nuit 13°4 moy. 16°8	2 ch. 18 h. 1 ch. 19 h 1 ch. 20 h. 1/2	2 ch. 23 h. 2 ch. 24 h.			19 h.	23 h. 1/2		
XI 11 ^e passage	29 mai 12 h.	jour 23° nuit 12°8 moy. 17°9	3 ch. 20 h. 1 ch. 21 h.	2 ch. 21 h. 1 ch. 22 h. 1 ch. 23 h.			20 h.	22 h.		
XII 12 ^e passage	30 mai 10 h.	jour 17°2 nuit 14° moy. 15°6	4 ch. 22 h.	4 ch. 26 h.			22 h.	26 h.		
XIII 13 ^e passage	31 mai 8 h. 1/2	jour 21°5 nuit 13°7 moy. 17°6	2 ch. 21 h. 2 ch. 23 h.	4 ch. 27 h.			22 h.	27 h.		
XIV 14 ^e passage	1 ^{er} juin 12 h.	jour 22°8 nuit 16°8 moy. 19°8	2 ch. 18 h. 2 ch. 10 h.	3 ch. 23 h. 1 ch. 24 h.			19 h.	23 h.		
XV 5 ^e passage	2 juin 8 h. 45	jour 21° nuit 16°4 moy. 18°7	3 ch. 21 h. 1/2 1 ch. 23 h.	3 ch. 21 h. 1/2 1 ch. 27 h.	1 ch. 26 h. 1/2 1 ch. 32 h. 2 ch. 34 h.	1 ch. 30 h. 3 ch. 34 h.	22 h.	22 h. 1/2	32 h.	33 h.
XVI 1 ^{er} passage	2 juin 9 h.	moy. 1°7	3 ch. 21 h. 1/2 1 ch. 25 h.	3 ch. 23 h. 1/2 1 ch. 27 h.	1 ch. 26 h. 1 ch. 32 h. 1 ch. 34 h. 1 ch. 35 h.	1 ch. 32 h. 1 ch. 34 h. 2 ch. 36 h.	22 h. 1/2	24 h.	32 h.	35 h.

telette de sang à injecter était prélevée directement dans la cavité générale à l'aide d'une pipette très finement étirée. Quinze passages consécutifs ont été faits d'après la méthode qui vient d'être expliquée; les résultats obtenus sont consignés dans le tableau ci-contre.

Toutes les chenilles inoculées au cours de ces différents passages ont reçu sensiblement la même quantité d'émulsion microbienne. Les variations constatées dans la durée de la maladie pour chacune d'elles, dépendent en premier lieu, de la quantité de Bacilles introduits dans la cavité générale (comparer les nombres des colonnes 8 et 9); en second lieu, des changements dans le degré de la

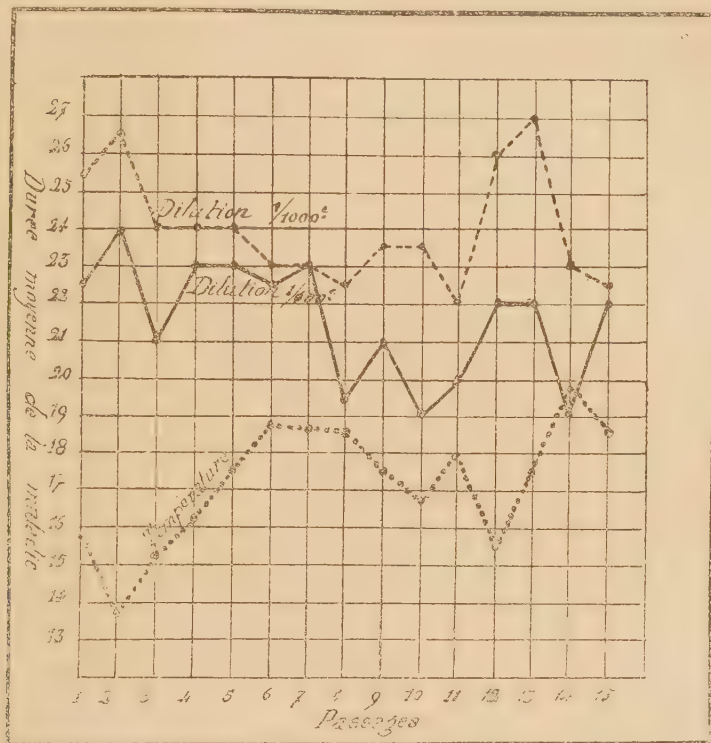


Fig. 50.

virulence des microbes injectés (comparer les nombres d'une même colonne, soit la 8^e, soit la 9^e). Si l'on compare les nombres de la colonne 8 ou de la colonne 9, on constate que la virulence ne s'accroît pas aussi régulièrement qu'on l'admet généralement. Le graphique ci-dessus rend mieux compte encore des variations journalières de la virulence au cours des différents passages.

La comparaison des résultats des expériences XV et XVI (15^e et 1^{er} passages) ne permet pas de conclure à un accroissement sensible de la virulence du Coccobacille inoculé. Celui de premier passage tue approximativement dans le même temps que celui de 15^e passage, aux différents taux de dilution expérimentés. D'autre part, nous avons constaté, dans un cas comme dans l'autre, que la dilution au 1/100000^e représente la dilution-limite susceptible de provoquer une mortalité de 100 0/0 parmi les chenilles inoculées.

La température, dans les limites où elle a varié durant tout le temps des

N° de l'Expérience	Date et heure de l'Inoculation	Température	DURÉE DE LA MALADIE		DUREE MOYENNE		Observations
			Dilution 1/10 ^e		Dilution 1/10 ^e		
I 1 ^{er} passage	20 juin 10 h.	jour 27.6 nuit 21.4 moy. 25.5			7 h.		La température moyenne de nuit est comptée de 19 h. à 7 h. le lendemain.
II 2 ^e passage	20 juin 17 h. 1/2				5 h.		
III 3 ^e passage	20 juin 22 h.				7 h.		
IV 4 ^e passage	21 juin 7 h.	jour 25. nuit 16.4 moy. 20.7			7 h.		
V 5 ^e passage	21 juin 14 h.				5 h.		
VI 6 ^e passage	21 juin 18 h.				17 h.		
VII 7 ^e passage	22 juin 12 h.	jour 20.3 nuit 16.9 moy. 18.6			22 h.		
VIII 8 ^e passage	23 juin 11 h.	jour 22.3 nuit 15.2 moy. 18.7			21 h.		
IX 9 ^e passage	24 juin 9 h. 1/2	jour 15.3 nuit 11.8 moy. 13.5			14 h.		
X 10 ^e passage	24 juin 22 h.				14 h.		
XI 11 ^e passage	25 juin 12 h.	jour 13.8 nuit 11.1 moy. 12.1			18 h.		
XII 12 ^e passage	26 juin 9 h. 3/4	jour 10.6 nuit 11.6 moy. 11.1	Dilution 1/100 ^e — 3 ch. 22 h. 1 ch. 25 h.	Dilution 1/100.000 ^e — 2 ch. 29 h. 1 ch. 31 h. 1 ch. 36 h.	Dilution 1/100 ^e — 23 h.	Dilution 1/100.000 ^e — 34 h.	
XIII 1 ^{er} passage	26 juin 9 h. 3/4		1 ch. 24 h. 1 ch. 29 h. 2 surviv.	3 ch. 29 h. 1 survivante			

expériences, ne paraît pas avoir eu d'influence sensible sur la durée d'évolution de la maladie ; en effet, les nombres les plus bas des colonnes 8 et 9 du tableau précédent ne coïncident nullement avec les moyennes les plus hautes de la colonne 3. (Voir aussi la courbe de la figure 50.)

On pourrait croire que les différences dans la durée moyenne de la maladie, au cours des passages, sont dues à l'état biologique des chenilles inoculées, mais alors, il n'y aurait pas correspondance dans le sens, sinon dans l'amplitude, des variations aux différentes dilutions ; autrement dit, les hautes ou les basses moyennes de la colonne 8 ne correspondraient pas toujours aux hautes et basses moyennes de la colonne 9. Par exemple : au 2^e, au 4^e et au 5^e passage, les durées moyennes de la maladie, pour les chenilles inoculées avec l'émulsion au 1/100^e, sont respectivement de 24, 23 et 23 heures, et pour celles inoculées avec l'émulsion au 1/1000^e, de 26 heures et demie, 24 heures, et 24 heures ; aux 3^e et 6^e passages, la durée diminue pour les deux dilutions : 21 heures et 24 heures pour le 3^e, 22 heures et demie et 23 heures pour le 6^e passage.

2^o Etude de la virulence de *B. LYMANTRICOLA ADIPOSUS* pour les chenilles de *Lymantria dispar* L.

Quatre chenilles de *L. dispar* ont été inoculées le 19 juin 1918 à 18 heures et demie avec une émulsion de Bacilles provenant d'une culture sur gélose du 3 avril ; le lendemain à 7 heures, toutes les chenilles étaient mortes infectées. Avec le sang de l'une d'elles, une nouvelle série de 4 chenilles a été inoculée, puis 11 autres, ce qui porte à 12 le nombre des passages effectués. Les résultats concernant la durée de la maladie pour chacune des séries sont consignés dans le tableau ci-contre (voir aussi le graphique fig. 51).

L'expérience ainsi faite n'a pas la même précision que la précédente, mais les résultats qu'elle fournit au point de vue des variations de la virulence, sont

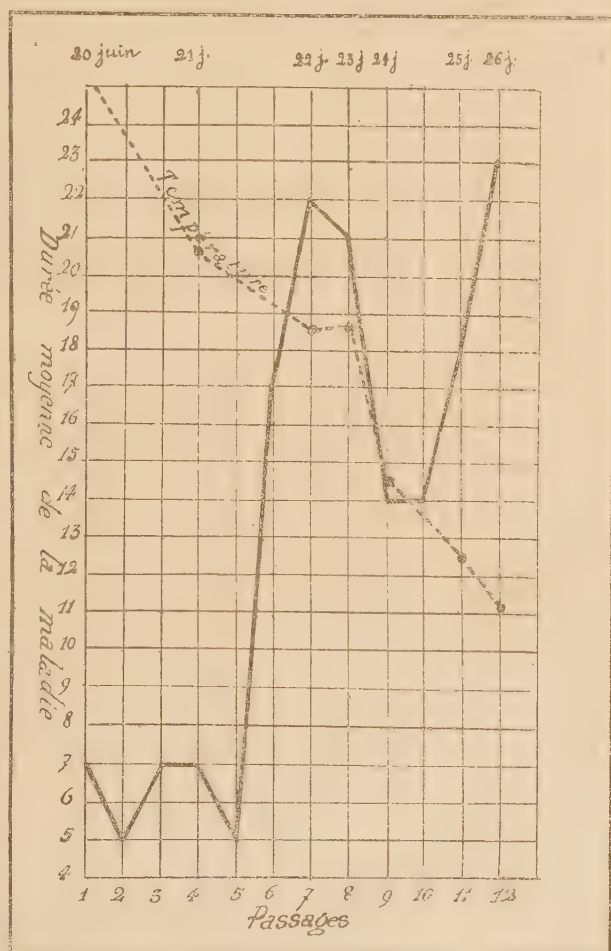


Fig. 51.

des plus intéressants. La virulence du Bacille pour les chenilles de *Lymantria* est d'emblée très grande; les chenilles meurent en 7 heures au 1^{er} passage, en 5 heures au 2^e, puis de nouveau en 7 heures aux 3^e et 4^e passages; à partir du 6^e passage, la virulence baisse brusquement pour se relever ensuite aux 9^e et 10^e passages mais sans atteindre cependant la valeur primitive; enfin elle baisse de nouveau à partir du 11^e passage. Les variations de la température ne sauraient expliquer ces variations de la virulence; en effet, la température s'est maintenue élevée jusqu'au 24 juin, alors que la virulence était déjà diminuée. On doit donc admettre que la chenille qui a fourni le virus de 6^e passage a modifié très sensiblement la virulence du microbe de 5^e passage et que cette modification est persistante.

La différence des durées moyennes de la maladie, après le 1^{er} et le 12^e passage, est assez considérable pour qu'on puisse conclure à une atténuation de la virulence du Bacille à la suite de plusieurs passages consécutifs par le même hôte. Cette conclusion ne s'accorde guère avec la notion classique de l'exaltation de la virulence des microbes; mais il ne faut pas oublier que nous avons affaire ici à des microbes vivant dans un milieu très différent de celui des Vertébrés supérieurs; les règles générales, qui sont valables pour ces parasites d'animaux supérieurs, ne le sont pas nécessairement pour ceux des êtres d'organisation plus simple.

L'examen du tableau précédent, nous permet de constater que la durée moyenne de la maladie peut varier considérablement d'un individu à un autre, même lorsque ces individus sont inoculés avec des microbes de même origine: c'est ainsi que les chenilles inoculées le 20 juin avec microbes de premier passage, sont mortes beaucoup plus tôt que celles inoculées le 26 juin, également avec Bacilles de premier passage. Ces constatations, comme les précédentes, paraissent un argument en faveur de l'influence prépondérante du facteur hôte. Dans le rapport qui exprime la virulence, la variable h aurait donc une influence prépondérante; en d'autres termes, la valeur de ce rapport serait surtout fonction du terme h . Mais il y a lieu de considérer aussi que les variations de h entraînent des variations de p ; celles-ci peuvent être d'amplitude plus grandes que les variations de h , de sorte que dans le rapport $\frac{p}{h}$, le terme p peut être celui qui détermine sa valeur. Ces considérations théoriques montrent combien il est difficile d'attribuer au facteur parasite ou au facteur hôte, l'influence prédominante dans l'exaltation ou l'atténuation de la virulence du microbe.

Les autres expériences que nous avons faites au cours des dernières années, confirment les conclusions que nous avons tirées des deux premières. Nous résumerons sommairement les plus importantes.

Expériences I. — Etude de la virulence du B. MELOLONTHÆ LIQUEFACIENS α pour les chenilles de Vanessa urticae L. — Après vingt-trois passages consécutifs, le Bacille tuait les chenilles en 7 ou 10 heures, c'est-à-dire en un temps qui était sensiblement le même que celui observé au cours des premiers passages.

Expériences II. — Etude de la virulence du B. LYMANTRICOLA ADIPOSUS pour chenilles d'Euproctis chrysorrhœa L. — Le graphique ci-contre donne le résultat des passages successifs. Comme dans l'expérience décrite plus haut, on peut constater que la virulence, après un relèvement sensible, s'abaisse brusquement ; les variations successives sont désordonnées. Au cinquième passage, la durée moyenne de la maladie est la plus basse qui ait été enregistrée ; la virulence du Bacille baisse ensuite, puis s'élève à nouveau, mais sans atteindre son intensité maximum.

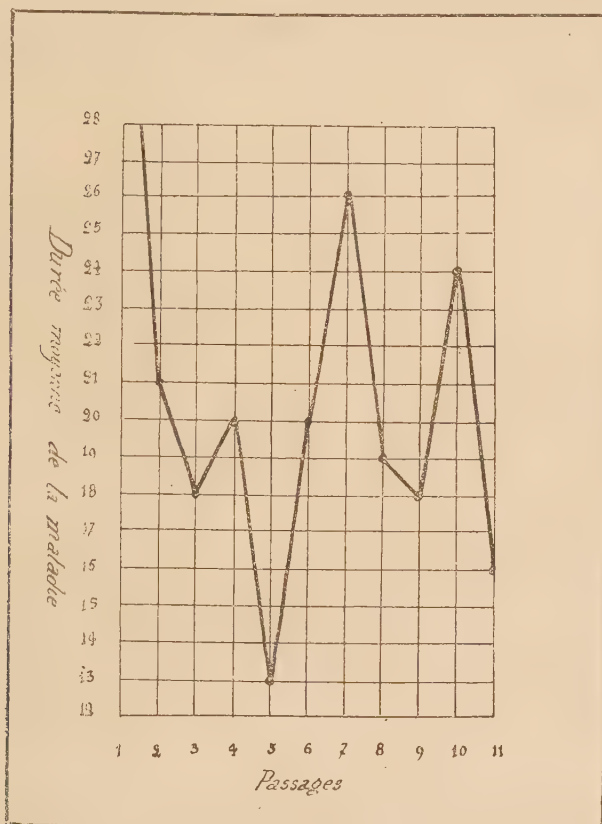


Fig. 52.

Expériences III. — Etude de la virulence du BACILLUS LYMANTRIÆ α pour les chenilles de L. dispar L. — Comme dans les expériences précédentes, la courbe qui représente l'intensité de la virulence au cours des passages successifs est très irrégulière. (Fig. 53.)

Dans toutes les expériences dont nous venons d'exposer les résultats, les microbes inoculés peuvent être considérés comme très pathogènes, puisque l'inoculation détermine une mortalité de 100 0/0 parmi les chenilles. Nous avons expérimenté aussi un certain nombre d'autres microbes moins pathogènes, afin de nous rendre compte s'il était possible, par des passages, d'exalter suffisamment leur virulence pour déterminer une mortalité de 100 0/0 parmi les chenilles inoculées.

Expériences IV. — Etude de la virulence du B. HOPLOSTERNUS pour les chenilles de L. dispar L. — Cinq chenilles adultes sont inoculées le 27 juin 1917 à 22 heures, avec une émulsion de spores provenant d'une culture de dix mois sur gélose ordinaire. A 10 heures, le lendemain, l'une d'elles meurt infectée ; une deuxième succombe à 16 heures ; les trois autres résistent.

Deuxième passage, à 14 h. 1/2 le 28 ; trois chenilles mortes infectées le lendemain à 8 heures ; les deux autres résistent

Troisième passage, le 29 à 9 h. 1/2 ; aucune chenille morte le lendemain ; deux succombent dans la nuit du 29 au 30 ; les autres résistent.

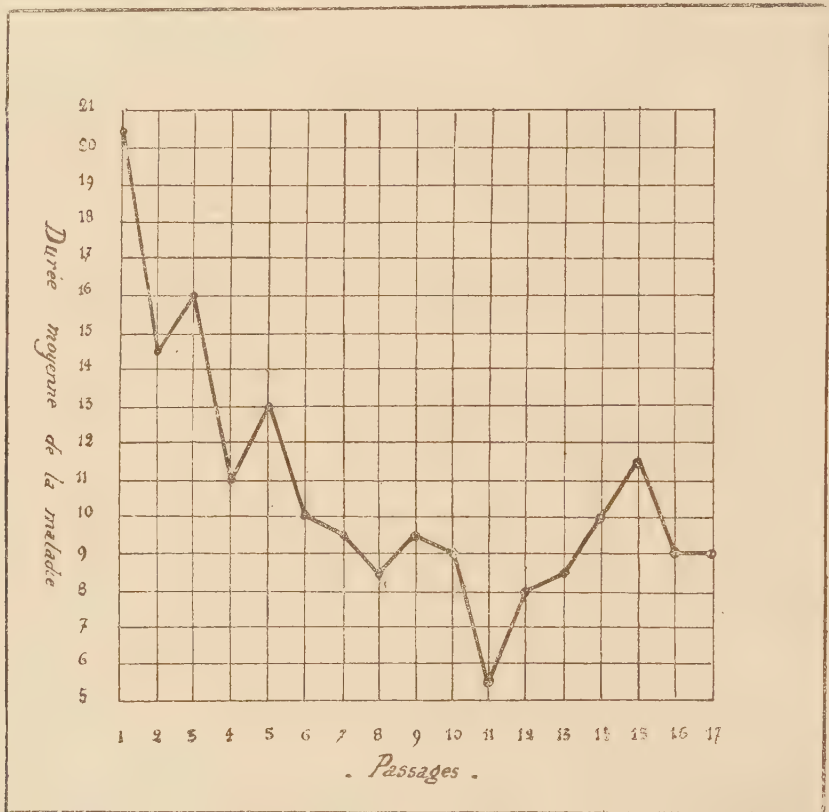


Fig. 53.

Quatrième passage, le 1^{er} juillet à 12 heures ; deux chenilles meurent le surlendemain vers 10 heures ; une autre dans la soirée ; les deux dernières résistent.

Cinquième passage, le 3 juillet à 12 heures ; deux chenilles succombent le lendemain à 10 heures ; une autre le surlendemain à 8 heures ; les deux dernières résistent.

Il ne semble pas que les cinq passages successifs du Bacille par chenilles de *Lymantria*, aient modifié sensiblement sa virulence pour cet Insecte.

Expériences V, — Etude de la virulence du *DIPLOCOCCUS BOMBYCIS* pour chenilles de *L. dispar* L. — La première inoculation a été faite le 27 juin 1917 à 22 heures, avec une goutte de sang de chenille d'*Eriogaster lanestris* L. infectée

Numéros	Dates	Heures	Passages	Nombre de de Sauterelles	Dilution du virus injecté	Les premières meurent après	Les dernières meurent après	Durée moyenne de la maladie	Nombre de Sauterelles mortes	Mortalité p. 0/0
	Mars					Heures	Heures	Heures		
1	24	10	1	30	pur	10	24	17	23	76
2	25	10	2	30	pur	9	23	16	29	96
3	26	9	3	24	1/2	8	11	9 1/2	22	91
4	26	9	4	11	1/3	8	10	9	11	100
5	27	10	5	17	1/4	6	7 1/2	7	16	94
6	27	20	6	20	1/5	7	10	8 1/2	20	100
7	28	14	7	16	1/6	7	15	11	16	100
8	28	23 1/2	8	21	1/7	15	27	21	21	100
9	29	9	8	12	pur	5	7	6	12	100
10	29	16 1/2	9	13	1/8	9	15	12	11	84
11	29	17 1/2	9	11	1/6	8	14	11	10	91
12	30	9	10	30	1/9	5	7	6	28	93
13	30	9	10	13	1/10	5 1/2	8 1/2	6 1/2	13	100
14	30	16	11	30	1/10	4 1/2	7	6	30	100
15	30	16 1/2	11	30	1/10	5	8	6 1/2	30	100
16	30	24	12	17	1/10	8	11	9 1/2	17	100
17	31	1	12	30	1/10	6	8	7	30	100
18	31	11	13	30	1/10	5 1/2	9	7	30	100
19	31	14	13	30	1/10	3	12	7 1/2	30	100
20	31	22	14	30	1/10	6 1/2	15	11	25	100
21	1 Avril	9	14	25	1/10	4 1/2	16	10	25	100
22	1	15	15	25	1/10	5	10	8	25	100
23	1	22 1/2	15	25	1/10	7	11	9	23	97
24	2	10	16	25	1/10	6	9 1/2	8	25	100
25	2	14 1/2	16	25	1/10	5 1/2	10 1/2	8	25	100
26	2	22 1/2	17	25	1/10	5 1/2	10 1/2	8	25	100
27	3	7 1/2	17	25	1/10	5 1/2	8 1/2	7	25	100
28	3	14	18	25	1/10	6	12	9	25	100
29	3	20	18	25	1/10	5	11	8	24	96
30	4	9	19	25	1/10	4	12	8	23	92
31	4	10	19	25	1/10	6	13	9 1/2	25	100
32	4	22	20	12	1/10	6	11	8 1/2	12	100
33	4	22 1/2	20	12	1/5	4	9	6 1/2	12	100
34	5	14 1/2	21	25	1/10	3	8	5 1/2	25	100

(D'après d'HÉRELLE.)

(5^e passage). Cinq chenilles ont été inoculées. Deux sont mortes 17 heures après, une autre au bout de 24 heures ; les deux dernières ont survécu.

Au deuxième passage, trois chenilles ont succombé en 24 heures ; les deux autres en 40 heures.

Au troisième passage, trois sont mortes 26 heures après l'inoculation ; les deux autres après 32 heures.

Au quatrième passage, deux après 24 heures ; une après 34 heures ; les deux dernières ont résisté.

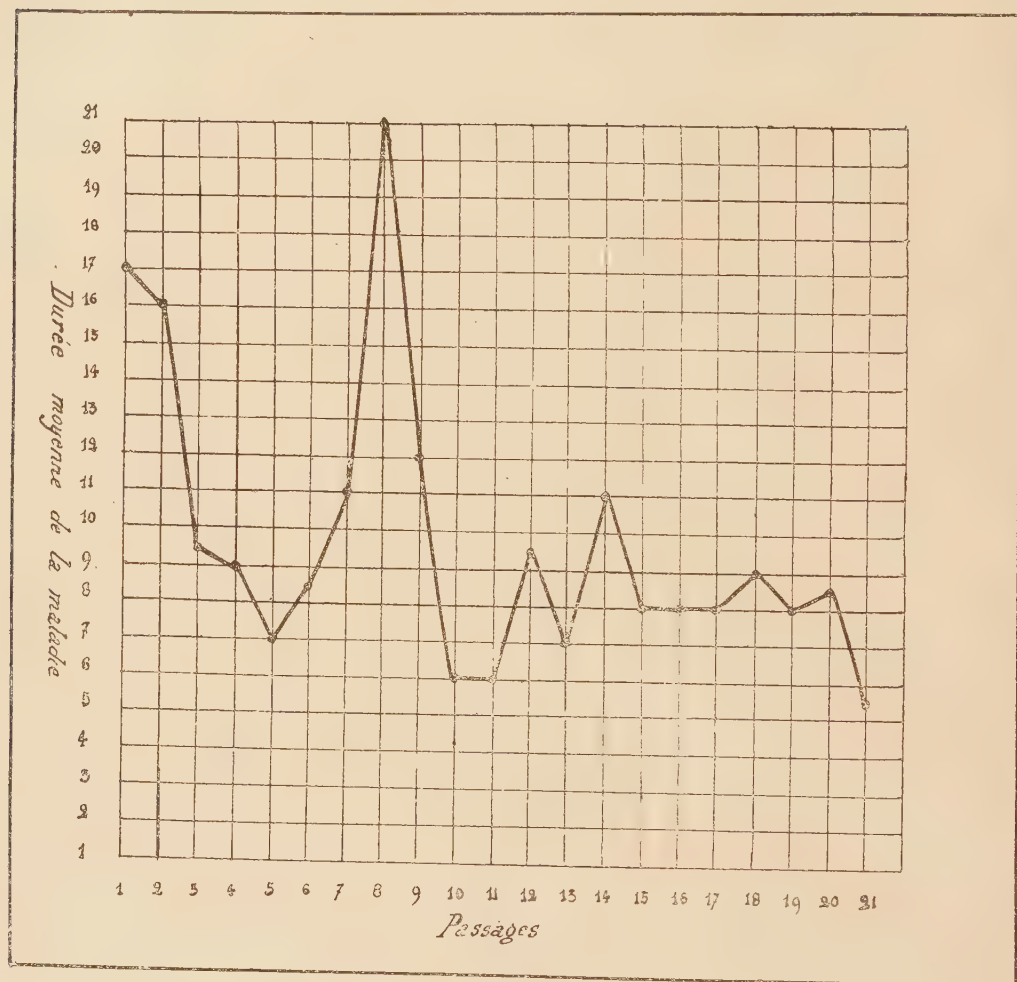


Fig. 54.

Enfin, au cinquième passage, sur six chenilles inoculées, deux sont mortes 10 heures seulement après l'inoculation ; deux après 24 heures ; les deux dernières ont survécu.

Les passages successifs du Diplocoque du Ver-à-soie par les chenilles de *Lymantria*, ne semblent donc pas avoir augmenté sensiblement la virulence de ce parasite. En comparant les taux de mortalité et les moyennes de durée de la maladie, pour chacune des séries inoculées, on constate, d'autre part, que le pouvoir pathogène du Diplocoque varie dans de grandes limites d'une série à

DATES	Passages	Dilution	HEURES DE L'INJECTION	DURÉE MOYENNE DE LA MALADIE	OBSERVATIONS
SÉRIE B					
13 mai	1 ^o	Pur	7 h. 1/2	8 h. 2/3	Bouillon de 5 jours 1/2 provenant du 9 ^o passage d'une série A.
— —	2 ^o	1/2	17 h. 1/2	12 h. 3/4	
14 —	3 ^o	1/2	7 h. 1/2	7 heures	
— —	4 ^o	1/3	18 h. 1/2	9 —	
15 —	5 ^o	1/4	1 heure	10 —	
— —	6 ^o	1/4	12 h. 1/2	4 h. 3/4	
— —	7 ^o	1/5	18 h. 3/4	5 h. 1/2	
16 —	8 ^o	1/5	0 h. 3/4	8 h. 3/4	
— —	9 ^o	1/4	13 h. 1/4	7 heures	
— —	10 ^o	1/5	22 heures	7 —	
17 —	11 ^o	1/6	8 —	5 —	
— —	12 ^o	1/7	14 h. 1/2	6 —	
— —	13 ^o	1/8	22 heures	9 h. 1/4	
18 —	14 ^o	1/8	13 h. 1/2	3 h. 1/2	
— —	15 ^o	1/9	22 heures	12 h. 1/2	
19 —	16 ^o	1/9	14 —	5 heures	
— —	17 ^o	1/10	23 —	12 h. 1/4	
20 —	18 ^o	1/10	13 h. 1/2	4 heures	Criquets âgés.
— —	19 ^o	1/10	22 heures	9 h. 3/4	
21 —	20 ^o	1/10	13 —	4 h. 3/4	
— —	21 ^o	1/10	18 h. 1/2	9 heures	
22 —	22 ^o	1/10	6 h. 1/2	4 h. 1/2	
— —	23 ^o	1/10	13 heures	3 h. 1/2	
— —	24 ^o	1/10	21 h. 1/2	8 heures	
23 —	25 ^o	1/10	6 h. 1/2	4 h. 1/2	
— —	26 ^o	1/10	13 h. 1/2	3 heures	
— —	27 ^o	1/10	21 heures	8 —	
24 —	28 ^o	1/10	7 h. 1/2	5 h. 1/2	
— —	29 ^o	1/10	14 h. 1/2	3 heures	
— —	30 ^o	1/10	22 h. 1/2	8 —	
25 —	31 ^o	1/10	7 h. 1/2	4 —	
— —	32 ^o	1/10	13 h. 1/2	14 —	
26 —	33 ^o	1/6	7 h. 1/2	3 h. 1/2	
— —	34 ^o	1/6	16 h. 1/2	6 heures	
— —	35 ^o	1/6	22 heures	10 —	
27 —	36 ^o	1/6	7 —	6 —	
— —	37 ^o	1/7	13 —	4 —	
— —	38 ^o	1/7	18 h. 1/2	7 —	
28 —	39 ^o	1/7	0 h. 3/4	9 —	
— —	40 ^o	1/8	10 h. 1/2	4 —	
— —	41 ^o	1/9	14 h. 1/2	4 —	
— —	42 ^o	1/10	22 heures	8 h. 1/2	

(D'après Velu et Bouin.)

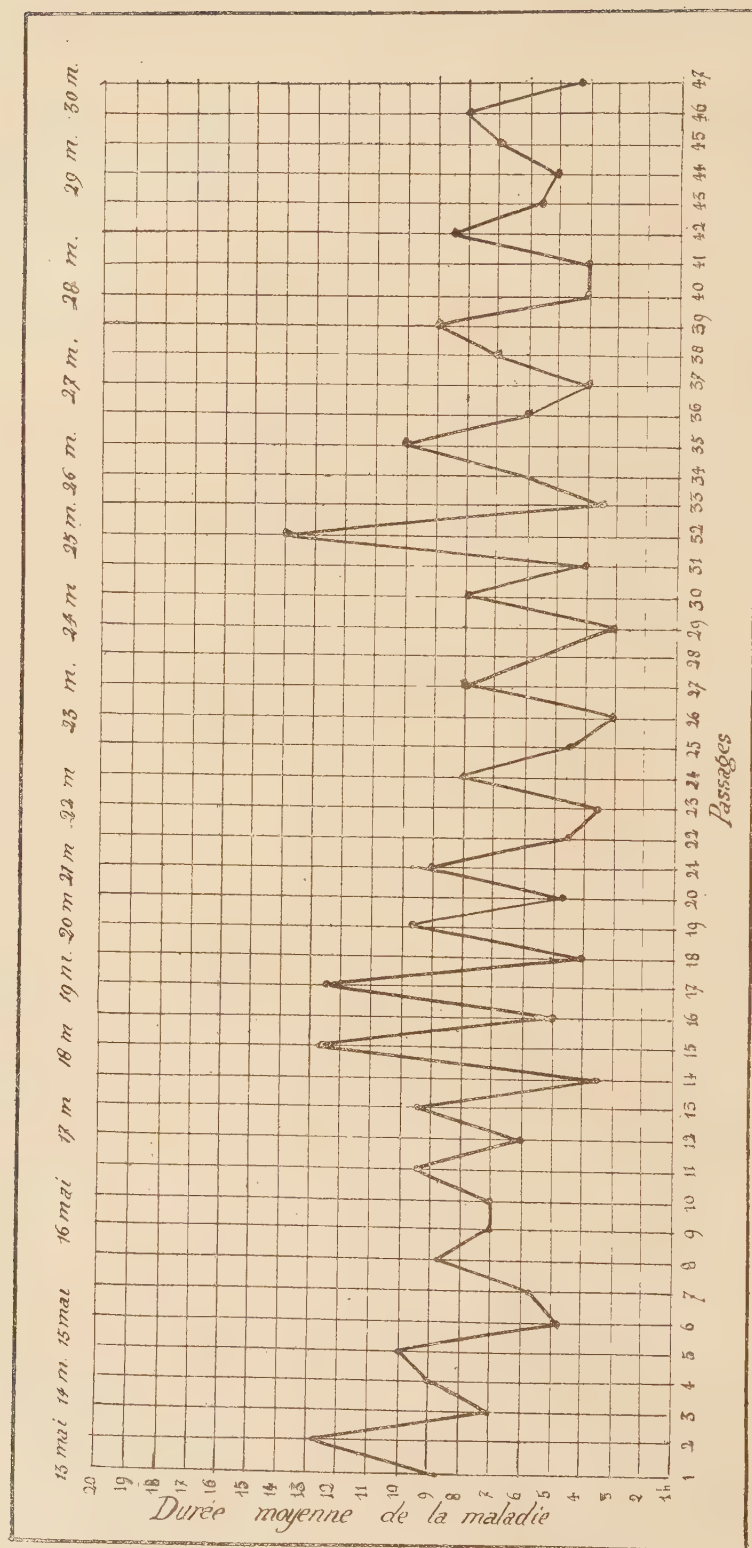


Fig. 55.

l'autre ; cette irrégularité dans les variations de la virulence au cours des passages, paraît être un phénomène très général chez les Insectes. Dans toutes nos expériences, nous l'avons constatée. Si nous nous reportons, d'autre part, aux expériences faites par d'autres auteurs, en particulier, par d'HÉRELLE, VELU et BOUIN (exaltation de la virulence du *Coccobacillus acridiorum* pour le Criquet), nous constatons aussi que des conclusions analogues peuvent être tirées de la comparaison des résultats obtenus au cours des passages.

Ainsi dans un des tableaux publiés par d'HÉRELLE et reproduit ci-contre, on voit que les premières Sauterelles inoculées meurent en 10 heures au premier passage et que d'autres de la même série succombent en 24 heures ; au deuxième passage, les premières meurent après 9 heures, les dernières après 23 heures seulement ; dans toutes les séries (22), on peut observer de semblables différences. Le graphique (fig. 54) représentant la courbe des durées moyennes de la maladie, présente de grandes analogies avec ceux que nous avons reproduit précédemment.

Le tableau de VELU et BOUIN, ainsi que le graphique reproduit d'après ce tableau (fig. 55), font ressortir aussi l'irrégularité, déconcertante au premier abord, des variations de la virulence du Coccobacille pour le Criquet, au cours des passages. Les deux auteurs expliquent cette irrégularité par les variations considérables de la température au cours d'une même journée. L'aspect de la courbe semble bien, en effet, confirmer cette manière de voir ; les séries qui fournissent la moyenne de durée de la maladie la plus élevée, sont le plus souvent celles qui ont été inoculées le soir ou pendant la nuit. Les auteurs n'ayant figuré dans leur tableau, qu'une seule moyenne par série, on ne peut savoir si la durée de la maladie, pour chaque individu, présente des écarts aussi considérables que ceux que nous avons notés au cours de nos expériences.

Conclusions. — 1° La virulence des microbes entomophytes pour les Insectes appartenant à une même espèce, varie d'individu à individu ; en général, ces variations sont de grande amplitude ; en l'état actuel de nos connaissances, on ne peut attribuer la cause de ces variations aux modifications de la puissance de multiplication du parasite ou de la force de résistance de l'hôte ; à plus forte raison, ne peut-on préciser quelle est la part de chacun des facteurs dans la détermination de la virulence et comment se manifeste l'influence de chacun.

2° La virulence ne suit pas une progression régulière au fur et à mesure des passages par individus appartenant à une même espèce ; le sens des variations peut être positif ou négatif ; aucune raison précise ne peut être donnée sur les raisons qui déterminent le sens et l'amplitude de ces variations ; elles sont d'ailleurs très irrégulières et ne paraissent pas obéir à une loi générale.

Ces conclusions paraissent en contradiction avec les lois concernant l'exaltation de la virulence des Bactéries chez les Vertébrés ; cette contradiction, si elle existe, s'explique d'ailleurs aisément : d'abord, il existe de profondes différences anatomiques, biologiques et physiologiques entre l'organisme d'un Vertébré supérieur et celui d'un Insecte ; ces différences ont une répercussion

certaine sur la force de résistance de ces organismes à l'infection ; nous verrons, en effet, que les réactions de défense chez les Insectes ne sont nullement assimilables à celles qui ont été décrites chez les Vertébrés. D'autre part, les Vertébrés supérieurs restent semblables à eux-mêmes pendant une période plus ou moins longue, alors que les Insectes, surtout lorsqu'ils sont à l'état larvaire, se transforment pour ainsi dire, d'un moment à l'autre ; enfin le milieu intérieur, siège des réactions de défense, est beaucoup plus stable chez les Vertébrés que chez les Insectes.

LES RÉACTIONS ANATOMIQUES CELLULAIRES ET TISSULAIRES CHEZ LES INSECTES.

Nous avons déjà dit que la forme de l'infection, chez les Insectes, est la septicémie. Tout microbe inoculé dans la cavité générale d'un Insecte peut s'y multiplier comme dans un milieu de culture artificiel, à condition, toutefois, que les forces de résistance cellulaires ou humorales ne contre-balancent pas la puissance de développement du microbe ; or, dans la presque totalité des cas, il est possible de réaliser des conditions telles que ces forces de résistance soient dans l'impossibilité d'arrêter le développement des parasites.

La mort des Insectes inoculés survient lorsque le sang est plus ou moins trouble, c'est-à-dire lorsque le nombre des microbes est devenu tel que les cellules qui baignent dans le sang soient dans l'impossibilité de vivre, soit qu'elles meurent par manque d'éléments nutritifs ou d'oxygène, soit qu'elles succombent à un véritable empoisonnement par les poisons microbiens. Nous ne connaissons cependant pas d'exemple caractéristique d'intoxication, chez les Insectes ; est-ce à dire que les microbes entomophytes sont incapables de sécréter des toxines ? Nous ne le croyons pas et certains faits sur lesquels nous reviendrons paraissent bien en démontrer l'existence.

Il y a cependant entre les Vertébrés et les Insectes, une différence fondamentale : les cellules de ces derniers n'accusent jamais une réceptivité aussi grande, vis-à-vis des poisons bactériens, que certaines cellules de Vertébrés vis-à-vis de toxines comme la toxine diphtérique ou la toxine tétanique ; d'autre part, les tissus et organes des Insectes sont beaucoup plus indépendants que ceux des Vertébrés ; certains d'entre eux peuvent même subir des lésions profondes ou disparaître, sans que la mort survienne aussitôt.

En général, les lésions ne sont pas caractéristiques comme chez les Vertébrés ; le sang étant lui-même infecté et les tissus et organes baignant largement dans ce milieu, les différentes cellules subissent toutes en même temps l'action morbide du virus. Aussi l'étude anatomo-pathologique ne présente-t-elle, dans la plupart des cas, qu'un médiocre intérêt. Nous ne connaissons que deux cas où cette étude mérite de retenir l'attention : 1° l'action élective du *B. lymantricola adiposus* sur le tissu adipeux ; 2° celle du *B. melolonthæ liquefaciens* γ sur les cellules phagocytantes du sang de chenilles d'*Euproctis chrysorrhœa* L.

I. — Action du *B. LYMANTRICOLA ADIPOSUS* sur le tissu adipeux des Insectes.

Comme les autres Coccobacilles entomophytes pathogènes, le *B. lymantricola adiposus* se développe abondamment dans le sang des Insectes et détermine leur mort rapide par septicémie ; mais à la différence des autres, il s'attaque plus particulièrement au tissu adipeux dont les cellules manifestent une sensibilité remarquable vis-à-vis de ce Bacille.

Si l'on inocule à une chenille de *Lymantria dispar* L., par exemple, une goutte d'une émulsion de Bacilles de culture, on observe quelques heures après l'inoculation, des globules de graisse en suspension dans le sang ; à mesure que le nombre des microbes s'accroît, la quantité de globules augmente ; moins de 24 heures après l'inoculation, cette quantité devient telle que le sang prend l'aspect laiteux, caractéristique du sang de chenilles atteintes de Grasserie. La res-



Fig. 55.

semblance avec cette dernière maladie est accentuée par le fait que la peau des chenilles se déchire facilement, laissant écouler un liquide épais, de couleur brun-noirâtre après la mort. Nous avons donné le nom de Pseudograsserie à la maladie déterminée par le *B. lymantricola adiposus*, en raison de l'analogie des symptômes externes avec ceux de la Grasserie typique. L'attitude des chenilles mortes rappelle aussi l'attitude bien connue des mêmes chenilles atteintes de Flacherie (partie abdominale accrochée au support par les fausses pattes abdominales et partie antérieure rejetée complètement en arrière).

Lorsque la chenille est dans un état d'infection très avancée, le tissu adipeux est complètement désorganisé. Si l'on fait une coupe dans une chenille à un état d'infection moins avancée, on observe que les bandes de tissu adipeux qui, normalement, sont formées de plusieurs assises de cellules, sont réduites à une ou deux assises dont un certain nombre de cellules présentent des signes manifestes d'altération. La figure 56 représente un lambeau d'une de ces bandes ;

on peut remarquer que la cellule de droite est réduite à un noyau auquel adhère encore une mince couche de cytoplasme ; la membrane de la cellule voisine est en partie disparue.

Il y a donc, au cours de l'infection par le Bacille, une véritable fonte du tissu adipeux avec libération des globules de graisse inclus dans le cytoplasme des cellules. Il semble, à première vue, que cette désorganisation du tissu adipeux soit le résultat de l'action d'une toxine sécrétée par le microbe inoculé ; mais l'existence de cette toxine n'est rien moins que prouvée. En effet, si l'on filtre sur bougie Chamberland, une émulsion concentrée de Bacilles de culture et qu'on injecte à plusieurs chenilles une goutte de filtrat, il ne se produit aucune lésion apparente du tissu adipeux. De même, si l'on fait macérer du tissu adipeux dans le liquide de filtration, on n'observe pas que ce tissu se désorganise, comme il le ferait dans l'organisme en état d'infection ; enfin, la macération du tissu dans l'émulsion microbienne ou dans du bouillon de culture riche en microbes ne donne pas de résultats comparables à ceux qu'on observe *in vivo*. Malgré ces résultats négatifs, on ne peut conclure de façon absolue à l'absence totale de toxine : tout au plus peut-on affirmer que cette toxine, si elle existe, est beaucoup moins active que celle élaborée dans le corps même de la chenille.

II. — Action du *B. MELOLONTHÆ LIQUEFACIENS* γ sur les micronucléocytes du sang des chenilles d'*Euproctis chrysorrhæa* L.

Le *B. melolonthæ liquefaciens* γ inoculé dans la cavité générale des chenilles d'*E. chrysorrhæa* L. détermine une très curieuse réaction des éléments phagocytants du sang de ces chenilles (nous avons donné à ces éléments le nom de micronucléocytes ; — voir à ce sujet la description sommaire que nous en avons faite, page 195) ; moins d'une heure après l'inoculation, si la culture employée est jeune et si la quantité de Bacilles injectés est suffisante, il apparaît, dans le cytoplasme de ces micronucléocytes, de véritables inclusions plus réfringentes que le protoplasme environnant et qu'il est impossible, à première vue, de différencier des grains de réserves existant normalement dans la plupart de ces éléments.

Etude expérimentale de la réaction. — L'expérience suivante nous a permis de suivre dans ses détails les différentes phases de la réaction.

Quatre chenilles adultes d'*Euproctis chrysorrhæa* L. ont été inoculées le 30 mai 1919 à 14 heures, avec une goutte d'une émulsion concentrée de Bacilles provenant d'une culture sur gélose du 24 mai.

L'examen du sang a été fait sur frottis colorés avec le mélange de Hollande. Ce colorant, qui peut remplacer dans une certaine mesure le mélange bien connu de Giemsa, est assez facile à préparer ; l'auteur a très clairement exposé la technique qu'il recommande (1). Il suffit de suivre exactement les indications que comporte cette technique pour obtenir un produit qui donne toute satisfaction.

(1) C. R. Soc. biol., Paris, LXXIX, 7 juillet 1913.

Une demi-heure après l'inoculation, les éléments du sang ne présentent encore aucun signe visible d'altération.

Après une heure, on observe dans le cytoplasme de quelques micronucléocytes de la chenille N° 1, de petites inclusions basophiles, colorées en bleu légèrement plus foncé que le protoplasme environnant; leur nombre, par cellule, est en général très limité; leur diamètre ne dépasse guère 1 μ . Toutes ont une forme régulièrement arrondie (fig. 57, 1).

Dans le sang des chenilles N° 2, 3, 4, la réaction est plus avancée: la grande majorité des micronucléocytes renferment des inclusions et le nombre de celles-ci, pour chaque cellule, est sensiblement plus élevé que dans les micronucléocytes de la chenille N° 1.

Après 2 heures, le nombre des micronucléocytes à inclusions a fortement

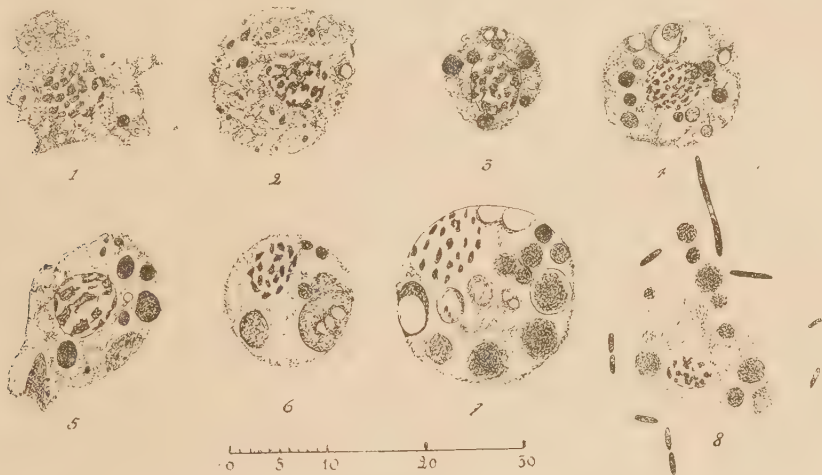


Fig. 57.

augmenté dans le sang de cette dernière chenille; le nombre des inclusions, dans chaque cellule, est aussi en augmentation sensible; enfin les dimensions moyennes des inclusions sont notablement plus grandes. Presque toutes les inclusions présentent encore la réaction basophile, mais on peut déjà observer qu'une petite proportion d'entre eux ont tendance à perdre cette basophilie pour devenir amphophiles (coloration pourpre foncé par le Giemsa ou le mélange de Hollande). Dans le sang des chenilles N° 2, 3 et 4, l'amphophilie est presque générale. Après 3 heures, l'amphophilie est encore peu marquée dans le sang de la chenille N° 1; les inclusions sont généralement de grandes dimensions et tous les micronucléocytes en sont pourvus.

Après 4 heures 1/2, l'amphophilie est devenue à peu près générale, à l'exception d'un petit nombre d'inclusions qui ont conservé la réaction basophile, et d'un certain nombre d'autres qui présentent déjà plus ou moins nettement la réaction éosinophile. On trouve peu de Bacilles libres en voie de multiplication dans le sang. Dans celui des autres chenilles, la réaction est toujours en avance bien marquée, mais aussi le nombre des Bacilles libres est beaucoup plus grand.

Après 5 heures 1/2, dans le sang de la chenille N° 1, les inclusions dont les dimensions moyennes sont à peu près restées stationnaires présentent généralement la coloration de la chromatine du noyau; on ne distingue celui-ci des inclusions de même dimension, que par sa structure (grains de chromatine en suspension dans le nucléoplasme). La coloration des inclusions est, en général, uniforme dans toute la masse; quelques-unes, cependant, sont plus intensément colorées à la périphérie qu'au centre. Un certain nombre affectent la forme semi-lunaire (fig. 57, 7). Les autres éléments du sang paraissent normaux.

A une phase plus avancée de la réaction, lorsque les microbes pullulent dans le sang, les micronucléocytes se désorganisent; les inclusions, si elles ne sont pas déjà fondues dans la masse de la cellule, sont mises en liberté dans le sang; peu après, elles disparaissent par un processus que nous ignorons; elles forment alors, sur les frottis colorés, des taches à peine rosées dont les contours sont plus ou moins indécis. Les autres éléments du sang se désorganisent en dernier lieu, lorsqu'il n'y a déjà plus trace de micronucléocytes.

Les tissus autres que le sang ne participent pas à la réaction; sur coupes fixées au mélange de BOUIN ou de BOUIN-DUBOSQ et colorées à l'hématoxyline au fer ou à l'hématéine, les inclusions apparaissent exclusivement dans le cytoplasme des micronucléocytes. Elles retiennent assez bien l'hématoxyline et apparaissent dans la cellule comme les nucléoles au milieu du noyau; elles se colorent plus faiblement par l'hématéine. D'après l'ensemble de leurs réactions colorantes, il semblerait que ces inclusions sont de nature nucléaire ou que la matière qui les forme est imprégnée de chromatine issue directement du noyau. Cette hypothèse ne repose sur aucun fait d'observation; le noyau des cellules en voie de transformation ne paraît pas, en effet, subir d'altération sensible au cours du processus d'élaboration des inclusions. Par contre, le cytoplasme est le siège d'une véritable désorganisation; au fur et à mesure que les inclusions se forment et augmentent de volume, on assiste à une disparition progressive de la substance cytoplasmique. Lorsque ces inclusions ont atteint leur maximum de développement, elles occupent la majeure partie de la cellule; le cytoplasme ne forme plus que de petits îlots à peine colorés et sans structure définie. Il apparaît ainsi que les inclusions sont de nature, ou plutôt, d'origine essentiellement cytoplasmique, mais cette origine n'explique pas leurs réactions colorantes particulières.

La transformation du cytoplasme a pour cause le microbe inoculé ou plus exactement une toxine sécrétée par ce microbe. En effet, si l'on filtre sur bougie de porcelaine une émulsion concentrée de culture microbienne, et qu'on inocule une goutte de filtrat dans la cavité générale de plusieurs chenilles d'*Euproctis*, on détermine, chez toutes, une réaction identique à celle que nous venons de décrire.

Expérience I. — Six chenilles sont inoculées le 26 mai 1919 à 11 h. 1/4, avec une goutte d'émulsion filtrée sur bougie Chamberland L. 5. L'aspect du sang des chenilles, 3 heures après l'inoculation, est le suivant :

Chenille n° 1. — Plus de 10 0/0 des micronucléocytes avec inclusions basophiles, en général de très petite taille.

Chenille n° 2. — La presque totalité des micronucléocytes renferment des inclusions basophiles.

Chenilles n°s 3, 4 et 5. — Réaction sensiblement moins intense que dans le sang des deux chenilles précédentes.

Chenille n° 6. — Réaction nette, mais les inclusions sont très peu colorées.

Sept heures après l'inoculation, les inclusions du sang des chenilles n°s 1, 3, 4, 5 et 6 ont perdu leur basophilie et sont amphophiles ou éosinophiles, mais la coloration est beaucoup moins intense que dans le cas où le sang est infecté par le microbe lui-même. Dans un certain nombre de micronucléocytes, on n'observe pas d'inclusions proprement dites, mais de simples taches protoplasmiques à peine teintées de rose et à contours indécis.

Dans le sang de la chenille n° 2, la réaction est beaucoup plus nette que dans celui de toutes les autres; les inclusions, à contours bien définis, sont toutes très intensément colorées.

En général, les micronucléocytes résistent à l'action de la toxine microbienne; les inclusions finissent par disparaître du cytoplasme et la cellule reprend son aspect normal.

Propriétés de la toxine sécrétée par le B. MELOLONTHÆ LIQUEFACIENS γ.

Le caractère le plus remarquable de cette toxine est sa grande spécificité: en effet, les seules cellules de l'organisme des chenilles d'*Euproctis* qui soient sensibles à son action, sont les micronucléocytes. Cette grande spécificité rappelle celle de la toxine tétanique, qui se fixe électivement sur les cellules nerveuses de l'Homme et des Vertébrés supérieurs; mais les répercussions sur l'organisme sont de toute autre nature: si, en effet, l'injection de toxine tétanique, même à dose très faible, à des animaux réceptifs détermine rapidement leur mort par lésion grave du système nerveux, celle de toxine du *B. melolonthæ liquefaciens* γ, aux chenilles d'*E. chrysorrhæa* L., est incapable à elle seule d'entraîner leur mort; elle ne cause même qu'exceptionnellement la mort des micronucléocytes.

Au point de vue de la toxicité, il y a une différence très nette entre la toxine de culture et celle élaborée par le microbe dans le sang de la chenille elle-même. Pour obtenir la réaction avec le filtrat de culture, il est nécessaire d'utiliser une émulsion très concentrée et d'inoculer une grosse goutte de filtrat; malgré ces précautions, il arrive souvent que la chenille inoculée réagit mal ou même ne réagit pas du tout. Avec le microbe vivant, au contraire, il suffit d'inoculer une petite goutte d'émulsion peu concentrée pour obtenir rapidement et sûrement la formation d'inclusions douées d'une grande affinité pour les colorants basiques ou acides.

On pourrait objecter que la multiplication rapide du microbe, correspondant à une sécrétion abondante de toxine, explique suffisamment la rapidité et l'intensité de la réaction; mais le microbe ne se multiplie pas aussitôt après qu'il

est introduit dans la cavité générale de la chenille ; on observe toujours un temps d'arrêt plus ou moins long dans la vie active du microbe, à partir du moment où on l'inocule ; or la réaction commence pendant ce temps de latence et on peut observer la formation des inclusions et même leur coloration chromatique, avant qu'il soit possible de trouver un seul microbe libre en état de croissance (l'état de croissance se manifeste sur frottis colorés, par l'intensité plus grande de la coloration et par l'accroissement sensible des dimensions du microbe).

Influence de la chaleur.

Expérience I. — Le 1^{er} mai 1919, à 19 heures, six chenilles d'*Euproctis* sont inoculées avec une grosse goutte d'émulsion microbienne concentrée, chauffée deux heures à 55° ; l'émulsion avait été faite avec une culture sur pomme de terre ensemencée le 3 février de la même année.

Quatorze heures et demie après l'inoculation, l'aspect du sang était le suivant :

Chenille n° 1. — Pas de réaction ; tous les micronucléocytes normaux ;

Chenille n° 2. — Quelques micronucléocytes avec un petit nombre d'inclusions légèrement plus basophiles que le cytoplasme environnant. Il n'est même pas possible de conclure catégoriquement à un commencement de réaction ;

Chenille n° 3. — Réaction assez nette ; près de la moitié des micronucléocytes renferment des inclusions ; mais celles-ci sont moins nombreuses et beaucoup moins fortement colorées que dans le cas de l'inoculation par microbes vivants ;

Chenille n° 4. — Quelques micronucléocytes avec inclusions, mais dans l'ensemble, réaction peu nette ;

Chenille n° 5. — Pas de réaction ;

Chenille n° 6. — On observe des inclusions dans la plupart des micronucléocytes, mais celle-ci sont à peine colorées.

Expérience II. — Le 29 mai, à 15 heures, quatre chenilles d'*Euproctis* sont inoculées avec une émulsion très concentrée chauffée 1 h. 1/2 à la température de 53° C. L'émulsion avait été faite avec une culture sur gélose ensemencée le 24 mai.

Après 3 heures, l'aspect du sang était le suivant :

Chenille n° 1. — Nombreux Bacilles morts en suspension dans le sang ; quelques inclusions très basophiles, dans une proportion assez élevée de micronucléocytes (environ 25 0/0) ;

Chenille n° 2. — Nombreux Bacilles morts dans le sang ; quelques inclusions très basophiles dans plus de la moitié des micronucléocytes ;

Chenille n° 3. — Bacilles moins nombreux. Pas de réaction ;

Chenille n° 4. — Bacilles nombreux. Réaction peu caractérisée.

Après 22 heures, la réaction est très nette dans le sang de la chenille n° 2 ; les inclusions, moins nombreuses cependant que dans le cas d'infection par

microbes vivants, présentent une belle coloration chromatique. Dans le sang des autres chenilles, la réaction n'a pas progressé.

Expérience III. — A 17 h. 3/4, quatre chenilles d'*Euproctis* sont inoculées avec une émulsion de Bacilles chauffée dans les mêmes conditions que dans l'expérience précédente.

Trois quarts d'heure après l'inoculation, la réaction commence dans le sang d'une des chenilles; les inclusions se forment dans le cytoplasme d'un grand nombre de micronucléocytes, mais elles sont de très petite taille; beaucoup même sont à la limite de visibilité. La réaction continue comme dans le sang de la chenille n° 2 de l'expérience précédente.

Le sang des trois autres chenilles reste normal.

Les trois expériences qui viennent d'être décrites montrent que la toxine élaborée par le *B. melolonthæ liquefaciens* γ , est assez sensible à l'action de la chaleur, puisqu'un chauffage prolongé à la température de 55° ou même de 53°, détruit à peu près complètement cette toxine.

Le mécanisme de son action sur le cytoplasme des micronucléocytes est encore inexpliqué. Y a-t-il désintégration de la substance protoplasmique sous l'influence directe de la toxine et formation de substance à structure moins complexe? ou bien les inclusions sont-elles constituées par des molécules plus complexes que celles dont est composé le protoplasme? En d'autres termes, la réaction est-elle assimilable à une décomposition ou à une synthèse? La question ne peut être résolue maintenant; ce qui paraît incontestable, c'est le passage de la toxine du sang dans l'intérieur des micronucléocytes et son action directe sur la composition chimique et physico-chimique du protoplasme. Le processus lui-même nous échappe complètement; l'examen à l'état frais ou après coloration nous renseigne seulement sur les modifications physiques de la substance protoplasmique et sur les changements survenus dans ses affinités pour les colorants; il nous montre en particulier que cette substance se transforme d'abord en masses arrondies, de volume variable, dont la tension superficielle est très différente de celle du protoplasme environnant, dont l'indice de réfraction est aussi sensiblement plus élevé; il nous montre aussi que le terme de l'évolution chimique des inclusions paraît être marqué par la fonte, dans la masse du sang, de leur substance propre; mais entre ces termes extrêmes, protoplasme et sang, les états intermédiaires nous sont totalement inconnus.

*Action de la toxine du B. MELOLONTHÆ LIQUEFACIENS γ sur chenilles
autres que celles d'Euproctis chrysorrhœa L.*

Les chenilles de Livrée (*Malacosoma neustria*) réagissent d'une manière analogue à celles d'*Euproctis*, cependant, la réaction n'est ni aussi rapide, ni aussi intense; les inclusions du cytoplasme restent petites et ne se forment que tardivement (fig. 58); en outre, elles ont moins d'affinité pour les matières colorantes basiques ou acides que les inclusions des micronucléocytes d'*Euproctis*. L'inoculation d'une grosse goutte d'émulsion microbienne filtrée détermine une très

faible réaction. Toutes les autres chenilles expérimentées ne présentent pas la réaction caractéristique des micronucléocytes.

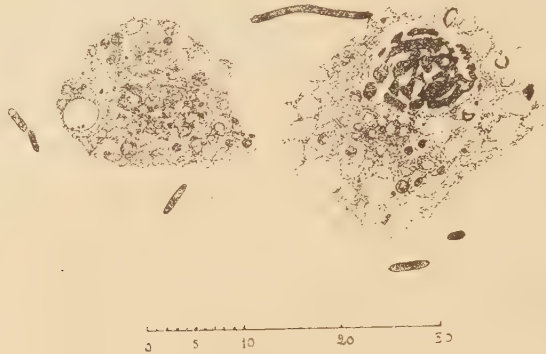


Fig. 58.

*Action de quelques Coccobacilles entomophytes sur les micronucléocytes
des chenilles d'Euproctis chrysorrhæa L.*

B. melolonthæ liquefaciens γ n'est pas le seul Coccobacille capable de provoquer la formation d'inclusions cytoplasmiques dans les micronucléocytes des chenilles d'*Euproctis*; un certain nombre d'autres espèces, dont *B. melolonthæ liquefaciens* β , *B. pieris agilis*, jouissent de propriétés analogues. De ces deux espèces, la première est celle dont la toxine se rapproche le plus par ses propriétés de celle du Bacille γ . Expérience : Quatre chenilles d'*Euproctis* sont inoculées le 7 juin 1919 avec une émulsion de Bacilles d'une culture du 3 avril.

Sept heures après l'inoculation, la réaction des micronucléocytes est nette dans le sang de toutes les chenilles en expérience; elle correspond sensiblement à la réaction provoquée par le Bacille γ une heure après l'inoculation. Les inclusions sont cependant moins fortement colorées; en somme, la différence entre les réactions causées par les deux microbes est plutôt quantitative que qualitative.

La même remarque peut être faite au sujet de la réaction provoquée par l'autre Coccobacille.

Conclusions. — Les deux cas que nous venons d'étudier, celui du *B. lymantricola adiposus* et celui du *B. melolonthæ liquefaciens* γ démontrent que, chez les Invertébrés, comme chez les Vertébrés, il peut exister une certaine spécificité parasitaire des microbes pathogènes. Cette spécificité n'est d'ailleurs que relative et cela s'explique par la différence d'habitat des parasites ordinaires de Vertébrés et d'Invertébrés; les premiers, ceux des Vertébrés à température constante principalement, vivent dans un milieu à température et composition assez uniformes, toutes conditions qui impriment à leur parasitisme un caractère de spécificité qui s'accroît de plus en plus par l'évolution. Ceux des Invertébrés, au contraire, sont en relation directe par le sang, avec les organes et les tissus les plus variés; d'autre part, ils vivent dans un milieu dont la température est essentiellement variable; ils sont donc dans les conditions les plus défavorables pour acquérir la spécificité parasitaire.

L'action de la toxine du *B. melolonthæ liquefaciens* γ sur les micronucléocytes des chenilles d'*Euproctis* est le seul argument sur lequel nous puissions nous appuyer pour affirmer l'existence des toxines chez les microbes entomophytes. L'argument n'a d'ailleurs qu'une valeur relative, car l'effet de la toxine élaborée par ce parasite, autrement dit, son pouvoir toxique, n'est nullement comparable à celui des toxines les plus connues (toxine diphtérique, tétanique, etc.).

En fait, les microbes entomophytes les plus pathogènes ne tuent pas les Insectes inoculés par une toxine qu'ils sécrètent : l'inoculation de filtrats de culture ne détermine jamais la mort de l'organisme, quelle que soit la dose injectée ; elle ne provoque même pas de lésions graves dans les tissus ou cellules de l'organisme. La mort des Insectes en état d'infection paraît avoir pour cause unique la pullulation des microbes dans le sang et les différents tissus.

L'UTILISATION DES MICROBES ENTOMOPHYTES DANS LA LUTTE CONTRE LES INSECTES NUISIBLES A L'AGRICULTURE

Depuis longtemps, on envisage l'emploi des microbes dans la lutte contre les Insectes nuisibles et cependant, les expériences relatives à ce mode de lutte sont en nombre très restreint. Alors que les tentatives de création d'épidémies artificielles par multiplication des Champignons entomophytes se multipliaient en France comme à l'étranger, les essais d'infection par Bactéries n'étaient pas encore sortis du domaine du laboratoire. Ce n'est qu'en 1912, qu'on parla pour la première fois de résultats positifs obtenus dans la nature, par multiplication artificielle de Bactéries pathogènes. Ces résultats furent obtenus par D'HÉRELLE avec le *Coccobacillus acridiorum*, isolé au cours d'épidémies naturelles décimant les invasions de Criquets au Mexique. A l'heure actuelle, nous ne connaissons pas d'autre exemple d'utilisation pratique de microbes entomophytes ; nous croyons utile, pour l'avenir de cette méthode générale de lutte contre les Insectes nuisibles, d'étudier en détail les différentes expériences qui sont à la base de la méthode particulière proposée par D'HÉRELLE, de les soumettre à une critique très sévère et de comparer les résultats obtenus, avec ceux des autres expérimentateurs de la même méthode.

Dans un mémoire important qui résume ses expériences les plus importantes, D'HÉRELLE donne toutes les indications utiles sur la manière de procéder dans la pratique, pour créer artificiellement des épidémies susceptibles de se propager sans nouvelle intervention de l'homme. Le virus destiné aux pulvérisations doit avoir une virulence telle qu'il soit capable de tuer en 8 heures, au maximum, les Criquets inoculés ; ce minimum de virulence est généralement obtenu à la suite d'un petit nombre de passages, douze au maximum ; cependant, lorsqu'on veut infester une espèce différente de celle d'où provient le *Coccobacille*, il paraît nécessaire de faire un plus grand nombre de passages ; ainsi,

ET. SERGENT, en Algérie, a dû pratiquer cinquante-deux passages par *Stauronotus maroccanus*, pour arriver à tuer en 8 heures ces Insectes avec le Coccobacille isolé par d'HÉRELLE dans le Yucatan ; par contre, à Chypre, douze passages ont suffi à M. W. FRANCIS pour obtenir le même degré de virulence contre la même espèce de Criquet. De semblables divergences ne s'expliqueraient guère si l'on ne savait, d'après les faits que nous avons exposés précédemment, que la virulence est caractérisée, chez les Insectes, par une très grande instabilité (voir les graphiques).

Des différentes conditions à réaliser pour obtenir le maximum de résultats dans la pratique, nous ne dirons rien, car nous n'avons fait nous-même aucune expérience d'infection avec le Coccobacille d'HÉRELLE ; mais il est permis de critiquer les conditions dans lesquelles les expériences de l'auteur ont été faites et les conclusions qui ont été tirées des résultats obtenus.

« Toute bande infectée — dit d'HÉRELLE — est condamnée à disparaître (p. 312 du mémoire sur « le Coccobacille des Sauterelles ») (1). Lorsqu'il s'agit des *Schistocerca* (espèce où l'acridiophagie est particulièrement développée), « si les conditions sont les plus favorables, une bande de Criquets peut être complètement détruite en huit jours », comme l'auteur a pu le constater lui-même dans la Province de La Rogia, en avril 1912. Mais il avoue ensuite que « le virus n'est pas un poison foudroyant, mais l'objectif doit être d'arriver en 2, 3 ou 4 ans, à réduire tellement le nombre des Sauterelles, que ces Insectes cessent d'être un fléau. » Si le virus n'est pas un poison foudroyant, comment expliquer qu'une bande de Criquets qui comprend des millions d'individus, puisse être complètement détruite en huit jours ? ou même en cinq ou six jours « comme cela arrive parfois ».

L'objectif indiqué par d'HÉRELLE nous paraît d'ailleurs quelque peu utopique : si la propagation naturelle de l'épidémie artificiellement créée est assez rapide et étendue pour enlever, en peu d'années, aux invasions de Sauterelles, le caractère de fléau, l'intervention de l'homme, l'épidémie étant déclanchée, ne doit plus être nécessaire, à moins que la violence de l'épidémie soit telle que les bandes entières soient complètement détruites en quelques jours. Dans ces conditions, en effet, « la propagation de l'épizootie à distance et sa conservation d'une année à l'autre, ne seraient pas possibles » ; l'homme devrait donc intervenir pour créer de nouveaux foyers d'épidémies ! Mais il ne semble pas possible qu'une épidémie, si violente soit-elle, détruise en totalité les innombrables individus qui composent une seule bande de Criquets ; aucun des expérimentateurs de la méthode proposée par d'HÉRELLE n'a d'ailleurs signalé un semblable taux de mortalité. Or, si la mortalité n'est pas totale, et logiquement, elle ne peut l'être, l'affirmation de l'auteur perd toute sa valeur et l'intervention de l'homme n'est plus indispensable, la nature assurant elle-même, dans le temps et dans l'espace, la propagation des germes de l'épizootie.

(1) Ann. Inst. Past, Paris, XXVIII, 1914.

Les observations de D'HÉRELLE sur la propagation à distance de ces germes sont sujettes à beaucoup de critiques : pour être en droit d'affirmer que des germes répandus en un lieu déterminé se sont dispersés, en quelques jours, dans un rayon de plusieurs kilomètres, il aurait fallu prouver qu'il n'existait pas d'épidémie autochtone dans les régions où a été constatée la présence nouvelle du Coccobacille. Or cette preuve n'a pas été donnée. L'insuffisance de preuve est particulièrement frappante dans un cas cité par l'auteur. Dans la République Argentine, en 1912, « le premier vol d'invasion — dit-il — a été constitué par un vol provenant des provinces du Nord (où avaient été faites des infections artificielles) et s'est abattu en septembre 1912 sur les environs de Rio Quarto; en novembre j'ai trouvé de vieilles Sauterelles mortes et malades et j'ai isolé le Coccobacille du liquide de diarrhée. En janvier 1913, une forte épizootie fut signalée dans ces régions, sévissant sur les Criquets nés des pontes laissées par ces Sauterelles de l'invasion de septembre; comme, intentionnellement, aucune infection n'avait eu lieu dans la contrée, il faut bien admettre que le virus provenait des infections de l'année précédente ».

L'auteur ajoute en note, « qu'on n'avait jamais signalé dans la République Argentine d'épizooties sévissant chez les Sauterelles avant les infections de janvier 1912 ». Il résulterait donc de ces constatations, que l'épizootie artificiellement créée dans le nord du pays s'est propagée rapidement très loin vers le sud et que le virus s'est conservé d'une année à l'autre. Mais le fait qu'on n'avait jamais signalé d'épizooties antérieurement à 1912, malgré les observations constantes des services chargés d'étudier les invasions de Sauterelles, ne constitue pas une preuve suffisante de l'absence d'épidémies autochtones, causées par le *C. acridiorum*; ces épidémies ont pu exister, en effet, sans qu'on ait pu soupçonner leur présence : D'HÉRELLE explique lui-même pourquoi, en cas d'épidémie, on ne peut espérer trouver beaucoup de cadavres sur le terrain : « on comprend aisément — dit-il — que, dans la pratique, où l'épizootie dure souvent presque un mois pendant lequel la bande parcourt plusieurs kilomètres en s'éparpillant, se fractionnant, chaque fraction se réunissant bientôt à des fractions d'autres bandes où une grande partie des cadavres sont dévorés par les mêmes Criquets, par les Oiseaux et par les Insectes, il devient pour ainsi dire impossible de trouver des morts. » Ces raisons fort judicieuses prouvent suffisamment que des épidémies autochtones ont pu sévir en République Argentine, comme dans d'autres régions ravagées par ce parasite, et échapper cependant à la vigilance des agents officiels du service de défense contre les invasions de Criquets. Il serait d'ailleurs étrange que ces épidémies autochtones ne jouassent aucun rôle en Argentine, alors que partout ailleurs, en Algérie et au Maroc, notamment (observations de SERGENT, VELU et BOUIN), elles causent la mort d'une proportion importante de parasites.

La méthode proposée par D'HÉRELLE pour vérifier la marche de l'épizootie, méthode qui consiste à prélever un certain nombre de Sauterelles, parmi les bandes infectées, et de compter celles qui sont atteintes de diarrhée, serait excel-

lente si l'on était sûr d'avoir toujours affaire à la même épidémie et s'il n'existait aucun *Coccobacille* autre que celui isolé par D'HÉRELLE, capable de provoquer la diarrhée caractéristique. Or ce n'est pas le cas : parmi les microbes que nous avons isolés et décrits, un certain nombre provoquent une diarrhée de même caractère, chez les chenilles qu'ils parasitent; d'autre part, ET. SERGENT a signalé en Algérie (campagne 1915) l'existence d'une épidémie autochtone sévissant parmi les Criquets pèlerins et causée par « deux virus différents, tous deux du même groupe microbien que le virus de D'HÉRELLE » ; ces deux virus déterminent, comme ce dernier, la production de la goutte noire diarrhéique.

En ce qui concerne la méthode de vérification de la présence du *Coccobacille* dans les cadavres de Sauterelles ou de Criquets, des critiques analogues à celles que nous venons de formuler, peuvent être faites. Il ne suffit pas, en effet, de constater la production de la goutte anale diarrhéique à la suite de l'injection, à des Sauterelles saines, d'une émulsion obtenue par trituration de cadavres dans le bouillon, pour être en droit de conclure à la présence du *C. acridiorum* dans ces cadavres. Le séro-diagnostic proposé par D'HÉRELLE donnerait de meilleurs résultats, malheureusement son emploi n'est guère possible en dehors du laboratoire ; d'ailleurs cette méthode n'est même pas considérée comme infaillible.

Nos recherches sur les parasites microbiens des Insectes nous ont convaincu de la nécessité du contrôle permanent des espèces dont on se propose d'étudier la pathogénité. Ce contrôle ne peut être superficiel, mais doit porter sur les propriétés biochimiques et les réactions biologiques les plus caractéristiques. Du fait de ce contrôle obligatoire, les expériences de contamination artificielle apparaissent singulièrement compliquées ; mais ces expériences n'ont de valeur certaine que si elles sont faites avec le maximum de garantie ; c'est pourquoi nous ne pouvons considérer les expériences en grand de D'HÉRELLE comme une démonstration suffisante de la valeur de son procédé de lutte contre les Criquets. Nous ne nions pas *a priori* la possibilité de la contamination *per os* des Sauterelles et Criquets par le *Coccobacillus acridiorum*, mais nous mettons en doute les conclusions pratiques tirées de ces expériences. Quant aux conclusions relatives à l'action pathogène du même virus sur Insectes autres que les Criquets, elles nous paraissent de même peu vraisemblables ; elles n'ont d'ailleurs pas fait l'objet d'applications pratiques depuis la publication du mémoire de D'HÉRELLE.

Les différents expérimentateurs de la méthode proposée par D'HÉRELLE pour lutter contre les Criquets, sont loin d'avoir conclu aussi catégoriquement que cet auteur, sur l'efficacité de la méthode.

BÉGUET, à la suite des expériences qu'il a faites en Algérie, en 1914, conclut ainsi :

« La pulvérisation d'une culture virulente de *Coccobacilles*, crée dans la bande de Stauronotes, une maladie épizootique caractérisée par une entérite ;

« L'épizootie est loin d'être foudroyante ; peu d'individus sont frappés à la fois, mais l'épizootie continue à se propager dans une même bande, jusqu'à la fin de l'évolution des Acridiens. »

L'auteur reconnaît cependant « qu'il existe en Algérie, pour le *Stauronote*, des conditions qui gênent la propagation de l'épizootie : ces Acridiens ne se dévorent entre eux que dans une minime proportion et ils évoluent dans des régions arides où la végétation clairsemée ne favorise pas la contamination des pâtures. »

Quoi qu'il en soit, la méthode D'HÉRELLE ne pourra constituer « qu'un moyen adjuvant des procédés mécaniques déjà employés ».

Avec les *Schistocerca peregrina*, les conditions sont tout autres, car l'acridiophagie est très développée chez cette espèce. Cependant, les expériences faites par le même auteur au cours de la campagne 1915, n'ont pas donné de résultats très concluants. « La destruction opérée par cette méthode, dans de bonnes conditions ordinaires, est suffisamment importante, dit-il, pour être utilisée dans la pratique.

« En effet, si cette destruction est lente, si la méthode ne peut pas protéger les cultures voisines, elle peut être un élément appréciable de destruction générale des Criquets, en prévision des invasions consécutives. »

Des conclusions analogues à celles de BÉGUET ont été formulées par Et. SERGENT et MUSSO, à la suite des expériences qu'ils ont faites en Algérie au cours de l'année 1915. Des observations d'une grande portée pratique ont été faites par Et. SERGENT, au sujet de l'existence d'épidémies autochtones dans les régions où avaient lieu les infestations. « Le *Coccobacillus acridiorum*, dit-il, n'a pas donné d'infection mortelle aux Criquets de la région de Sebdou. Une infection épidémique autochtone, due à la présence de deux virus différents, tous deux du même groupe microbien que le virus de D'HÉRELLE, a été constatée dans cette région, chez les Sauterelles, puis chez les Criquets.

« Il y a lieu de penser que cette infection autochtone, peu meurtrière pour les Criquets, les a vaccinés contre le virus américain.

« La méthode biologique n'a donné aucun résultat dans cette région en 1915. »

L'auteur croit donc attribuer son insuccès à l'influence vaccinante de l'infection autochtone ; mais aucun fait d'expérience n'est cité à l'appui de cette hypothèse. S'il s'agissait de Vertébrés, l'explication serait plausible, mais chez les Invertébrés, chez les Insectes, en particulier, on ne connaît que peu de cas d'immunité acquise : nous croyons avoir décrit le premier cas en 1920 ; depuis cette date, nous en avons étudié quelques autres, il n'en reste pas moins que l'immunité acquise est beaucoup moins générale chez les Insectes que chez les Vertébrés. D'autre part, nous verrons, en étudiant les réactions d'immunité, que celles-ci se présentent avec des caractères très particuliers ; l'hypothèse de SERGENT ne peut donc avoir qu'une valeur très relative et nous ne la considérons pas comme une explication suffisante de l'insuccès de ses expériences.

Musso, en conclusion de ses essais d'infestation du *Schistocerca peregrina*, dit que les résultats obtenus par la méthode biologique, très intéressante au point de vue théorique, n'ont plus qu'une importance relative au point de vue pratique :

1° Parce que la mortalité due à l'épizootie n'a pas été immédiate et a exigé, au contraire, un délai de deux à cinq jours pour se déclarer;

2° Parce que la destruction des Criquets par cette méthode n'a pas été complète. L'importance de la mortalité a été sensiblement proportionnelle à l'intensité du traitement, dans les bandes D1, D2 et D3. Dans les trois expériences, l'épizootie tend vers une extinction plus ou moins rapide, selon que le traitement est suspendu plus ou moins vite. Cette extinction doit être attribuée plutôt à un défaut de contamination qu'à une immunité, puisque l'inoculation directe du Coccobacille tue vingt sur vingt-quatre, c'est-à-dire, sensiblement 80 0/0 des survivants. Musso explique cette diminution progressive par l'élimination des malades, des bandes (diminution de leur activité ambulatoire), par l'action des ennemis naturels, plus intense sur les malades que sur les Criquets sains, par l'exaltation extrême du virus, qui tend à intoxiquer plutôt qu'à infecter.

Cette dernière raison est hypothétique; l'auteur ne donne aucune preuve de l'action toxique du virus. Dans les nombreuses expériences d'infection que nous avons faites nous-même, nous avons toujours constaté, au contraire, que la mort des Insectes inoculés survenait à la suite d'une pullulation excessive des germes pathogènes dans le sang et les tissus, mais jamais à la suite d'une intoxication proprement dite. En tout cas, il paraît bien démontré que les Invertébrés, d'une manière générale, sont incomparablement moins sensibles à l'action des toxines microbiennes que les Vertébrés. Si l'hypothèse de Musso est bien fondée, et il est facile de mettre à l'épreuve son exactitude, elle constitue une exception remarquable à cette règle générale.

VELU et BOUIN, au Maroc, ont fait une série d'expériences très complètes pour déterminer la valeur pratique de la méthode d'HÉRELLE dans la lutte contre le *Schistocerca peregrina*. En 1915, ils concluaient, à la suite de leurs premières expériences, que « la méthode d'HÉRELLE donne des résultats encourageants. En partant d'un Coccobacille suffisamment exalté, on peut créer, soit par la pulvérisation des bouillons, soit par la contamination à l'aide des Criquets malades, des épizooties très contagieuses et quelquefois très meurtrières, dont la marche est loin d'être foudroyante.

« La constatation des résultats est chose très difficile. L'évolution de l'épizootie doit être surveillée par l'étude du pourcentage de la mortalité en cage, et non par l'étude de la morbidité.

« La virulence du Bacille de D'HÉRELLE nous semble très fugace et ses atténuations entraînent des échecs partiels qui ne doivent cependant pas faire rejeter le précédent.

« Malgré ces imperfections, il convient de prendre, dès maintenant, toutes les mesures utiles en vue de l'appliquer largement lors des nouvelles invasions de Sauterelles, en la combinant judicieusement aux autres méthodes de destruction. »

Au cours des campagnes suivantes, VELU a pu constater, comme SERGENT en Algérie, que l'existence d'épidémies autochtones rendait très difficile, ou

même impossible, la contamination artificielle des Acridiens. La conclusion tirée des expériences faites en 1919 est nettement défavorable : la méthode biologique, « extrêmement intéressante au point de vue expérimental, ne saurait être préconisée dans la pratique, pour le moment du moins ».

MERESKOWSKY, en Russie, a souvent observé, dans le sang de *Locusta migratoria*, d'apparence saine, des Coccobacilles analogues à celui de D'HÉRELLE ; il ne serait donc pas impossible, conclut-il, qu'au cours des passages successifs, le microbe injecté changeât d'identité ; on ne pourrait alors utiliser la dernière culture, obtenue par ensemencement du sang de Sauterelles de la dernière série inoculée, que si l'on est sûr d'avoir affaire à une culture pure possédant un pouvoir pathogène suffisant pour contaminer les Locustes *per os*.

En Egypte, Mc. KILLOD et GOUGH n'ont obtenu que peu de résultats positifs dans leurs essais de contamination artificielle des Acridiens, par le *Coccobacillus acridiorum*.

De même, au Canada, du PORTE et VANDERLECK n'ont pas réussi à créer des épidémies artificielles par pulvérisation de cultures virulentes ; les deux auteurs font très justement remarquer que l'insuccès peut tenir aux mœurs des Acridiens du Canada, en particulier, à leurs habitudes sédentaires et leurs mœurs pacifiques (aucune des espèces du Dominion n'est cannibale). Comme VELU, SERGENT, MERESKOWSKI, ils ont constaté, chez ces Acridiens, la présence de Coccobacilles identiques à celui décrit par D'HÉRELLE ou peu différents de ce type ; ces Coccobacilles immuniseraient les Insectes contre le virus américain D'HÉRELLE.

Cette même opinion a été formulée par PANTANELLI, qui a trouvé normalement, en Italie, sur l'herbe et dans l'intestin des Stauronotes, des Bactéries identiques au *Coccobacillus acridiorum*, mais dépourvues de virulence ; cette virulence pourrait s'acquérir par passages successifs. PANTANELLI attribue à deux autres causes le peu de succès des expériences d'infestation en plein champ : 1^o à la faible mortalité résultant de l'infection *per os* (22 0/0 au maximum, en cage ; 8,3 0/0 seulement en plein champ) ; 2^o à la diminution rapide de la virulence des Coccobacilles exposés au soleil ; si les Criquets ne s'infectent pas dans les premières 24 heures, l'épidémie n'a aucune chance de se produire. En résumé, pour l'auteur italien, la méthode de destruction des Criquets par création d'épidémies artificielles, est loin de donner des résultats aussi brillants que ceux publiés par D'HÉRELLE.

KRAUSS rapporte qu'en Argentine, la Commission du Ministère de l'Agriculture, chargée spécialement d'étudier la méthode préconisée par D'HÉRELLE, a conclu, à la suite de ses expériences propres :

1^o Qu'il n'est pas possible de produire en plein champ l'infection épidémique et la mort des jeunes Locustes par pulvérisation d'une culture de *Coccobacillus acridiorum*, dont la virulence a été préalablement exaltée ;

2^o Que le Coccobacille est un habitant normal de l'intestin des Locustes bien portantes et qu'il les tue seulement par inoculation dans la cavité générale ;

3^e Que l'infection ne se produit pas lorsque le Coccobacille est ingéré par les Locustes avec la nourriture.

Au Cap, LUNSBURY n'a pas eu de résultats bien nets dans ses expériences d'infestation artificielle du *Zonoceras elegans*; sans condamner tout à fait la méthode, il n'en recommande l'emploi qu'en supplément de la méthode de traitement arsénical.

MACKIE, aux îles Philippines, n'enregistre que des résultats très insuffisants dans ses expériences et ne recommande pas la méthode.

En résumé, la plupart des auteurs qui ont expérimenté la méthode biologique préconisée par D'HÉRELLE, s'accordent pour la juger insuffisante comme moyen de lutte contre les Acridiens; aucun n'ose suivre cet auteur dans ses conclusions beaucoup trop optimistes; quelques-uns même la condamnent sans réserves.

La conclusion naturelle qui nous paraît ressortir de cette étude critique et historique, de la seule méthode pratique proposée jusqu'ici pour lutter contre les Insectes parasites par les microbes pathogènes, est que la valeur pratique de cette méthode n'est rien moins que démontrée. Mais il n'est pas prouvé, non plus, que toute tentative de lutte par les infestations artificielles soit invariablement vouée à l'insuccès. A notre avis, D'HÉRELLE nous semble avoir conçu trop simplement la méthode qu'il propose; en fait, cette méthode est extrêmement complexe et elle pose un certain nombre de problèmes dont la solution n'a pas encore été donnée. La création d'épidémies artificielles suppose la mise en œuvre de facteurs dont beaucoup, ainsi que nous l'avons déjà dit, sont inconnus et échappent à l'influence de l'homme; ces facteurs réagissent les uns sur les autres, soit pour aggraver l'épidémie, soit pour en arrêter le cours; la résultante générale de toutes les forces en action au cours d'une épidémie est mesurée grossièrement par le taux de mortalité; ce taux varie suivant le milieu, le moment où l'on opère; peut-être faut-il voir dans ce fait l'explication des résultats divergents enregistrés par les expérimentateurs de la méthode D'HÉRELLE.

Qu'il s'agisse des Insectes ou des autres Invertébrés, nous ignorons presque tout des conditions de l'épidémie et c'est pourquoi nous sommes le plus souvent incapables de la provoquer; même lorsqu'il s'agit de l'homme ou des autres Vertébrés supérieurs, les causes profondes qui modifient dans un sens ou dans l'autre la marche des épidémies, sont généralement ignorées. Il ne suffit pas de bien connaître l'agent d'une épidémie pour se croire en mesure de la déclencher à volonté ou d'en arrêter le cours. Etudier en détail la morphologie et la biologie du microbe hors du milieu naturel où il évolue normalement, c'est faire œuvre de naturaliste pur; la connaissance totale de la méthode biologique exige une autre étude beaucoup plus difficile et plus complexe: celle des rapports du microbe avec son hôte et avec le milieu où l'un et l'autre évoluent. Le milieu extérieur joue un rôle beaucoup plus important chez les Invertébrés que chez les Vertébrés à température constante; ces derniers, ainsi que nous l'avons déjà fait remarquer, restent relativement semblables à eux-mêmes, en dépit des chan-

gements de milieu, ces changements ne dépassant pas, toutefois, les limites des variations ordinaires ; chez les Invertébrés, au contraire, le milieu intérieur est beaucoup moins indépendant du milieu extérieur et toute variation de ce dernier entraîne une variation correspondante du premier, de telle sorte que les conditions de développement du microbe parasite sont modifiées à chaque instant. Il en résulte une difficulté plus grande dans l'étude de l'épidémiologie chez les Invertébrés que chez les Vertébrés ; or cette étude est à peine ébauchée ; dans ces conditions, il est logique d'admettre que l'application pratique de la méthode d'HÉRELLE devait donner lieu à beaucoup de mécomptes.

Nous avons cru devoir insister sur les difficultés d'application de la méthode biologique plutôt que sur ses avantages, non que nous demeurions sceptiques sur l'avenir de cette méthode, nous croyons au contraire qu'elle pourra rendre les plus grands services à l'agriculture, mais parce que nous jugeons indispensable de bien faire connaître toute l'étendue et la complexité de l'œuvre à réaliser avant d'en commencer l'exécution. L'erreur de tous ceux qui ont voulu préconiser la création d'épidémies artificielles pour lutter contre les Insectes nuisibles, qu'il s'agisse d'épidémies causées par les Champignons ou d'épizooties de nature bactérienne, est d'avoir méconnu les lois qui régissent la méthode proposée et d'ignorer la valeur réelle des forces naturelles mises en œuvre. Aussi, toutes les méthodes particulières préconisées depuis un demi-siècle, et basées sur l'emploi des Champignons ou des Microbes entomophytes, ont-elles été successivement abandonnées dans la pratique.

CHAPITRE III

L'IMMUNITÉ CHEZ LES INSECTES

On peut définir l'Immunité : le pouvoir que possède un organisme vivant de résister à une infection microbienne ou à une intoxication par des produits microbiens. Un organisme peut se défendre contre une infection et pourtant succomber ; en fait, il est rare que l'être vivant succombe sans défense et sans que les cellules et les tissus réagissent contre le microbe ou ses toxines. L'immunité est donc toute relative : elle est la résultante de toutes les réactions cellulaires, tissulaires et humorales.

Deux théories ont essayé d'expliquer le mécanisme de l'immunité : l'une, dite cellulaire ou phagocytaire, défendue par METCHNIKOFF et son école, qui fait des leucocytes du sang les seuls éléments actifs de défense de l'organisme ; l'autre, dite humorale, dont BUCHNER fut le plus ardent défenseur, qui considère la phagocytose comme une réaction de défense secondaire et fait remonter la phase principale à l'action bactéricide des humeurs, action qui se manifesterait avant toute intervention des leucocytes. BUCHNER et son école ont admis cepen-

dant que les substances bactéricides résultaient d'une sécrétion leucocytaire et sa théorie se rapproche, par là, de la théorie cellulaire de l'immunité. METCHNIKOFF n'a jamais voulu admettre cette sécrétion ; pour lui, les substances bactéricides élaborées par les leucocytes ne sortent pas des cellules vivantes ; elles ne passent dans le sang, qu'au moment de la destruction de la cellule elle-même. Nous ne pouvons entrer dans le détail des discussions interminables auxquelles se sont livrés partisans et adversaires de l'une et l'autre école. La plupart des Bactériologistes ont d'ailleurs concilié les deux théories et les admettent toutes deux, mais en leur refusant le caractère d'exclusivisme absolu que leur avait donné leurs premiers partisans.

L'immunité est encore très mal connue chez les Invertébrés en général et les Insectes en particulier ; ce fut cependant sur un Invertébré, la Daphnie, que METCHNIKOFF fit ses premières observations d'où naquit la théorie de la phagocytose. Mais les expériences les plus célèbres ont été faites sur les Vertébrés, et dans son histoire comparée de l'immunité dans les maladies infectieuses, il passe très rapidement sur tout le monde des Invertébrés. D'autre part, METCHNIKOFF n'expérimenta sur les Insectes que des microbes parasites d'animaux à température constante, comme par exemple, la Bactéridie du Charbon, le Vibron du Choléra. Cette même critique peut être faite à propos de tous les travaux relatifs à l'étude de l'immunité chez les Insectes.

Injectant à des larves d'*Oryctes nasicornis*, un peu de culture de Bactéridie charbonneuse, METCHNIKOFF observa que ce Bacille ne se développait pas dans le sang, mais était englobé par les leucocytes. Le sang des larves constitue cependant un bon milieu de culture pour ce Bacille. En leur injectant, au contraire, une très petite quantité de Vibrions cholériques, on provoque, à coup sûr, leur mort par infection généralisée ; or ces Vibrions « provoquent chez les leucocytes du sang, une chimiotaxie négative et poussent sans être gênés, dans le plasma sanguin. La larve se transforme bientôt en un vase de culture et la quantité de Vibrions qui s'y développent, amènent la mort de l'animal. »

KOWALEWSKY, cité par METCHNIKOFF, a étudié l'action de la Bactéridie du Charbon sur les Grillons ; cet auteur a montré que les microbes injectés, comme d'ailleurs beaucoup de substances étrangères, étaient phagocytés très énergiquement par quatre organes spéciaux situés dans le voisinage du cœur, qu'il a décrits sous le nom de « rate ». Cependant, les Grillons inoculés (maintenus à la température de 22-23°) succombèrent généralement à la maladie. L'infection généralisée résulte alors de l'insuffisance de l'englobement des Bactéridies par les phagocytes et de la possibilité, pour le microbe, de se développer facilement dans le sang.

Par contre, d'après BALBIANI, le Grillon se montre réfractaire vis-à-vis de grandes quantités de Bacilles appartenant au groupe du *Bacillus subtilis* ; cette immunité est exclusivement due à l'activité phagocytaire des leucocytes et des organes phagocytaires.

« Les Insectes qui n'ont que peu de leucocytes — dit METCHNIKOFF —

comme les Papillons, Mouches, Hyménoptères, se montrent plus sensibles à l'infection, pour les mêmes microbes. »

La conséquence de toutes ces observations, pour METCHNIKOFF, est que la phagocytose seule explique tous les cas d'immunité chez les Insectes. Cette opinion a été soutenue par la presque totalité des auteurs qui ont étudié l'immunité dans les maladies infectieuses chez les Insectes.

Etudiant sur un Myriapode, la Scolopendre, l'action du virus charbonneux, KOWALEWSKY a montré que :

1° Pendant les chaleurs de l'été, les Scolopendres inoculées mouraient dans les vingt-quatre à quarante-huit heures qui suivaient l'inoculation, mais qu'une certaine proportion d'entre elles, résistaient à l'infection.

2° Le taux des survivantes était beaucoup plus élevé lorsque les inoculations étaient faites à 17-18°.

L'auteur a essayé d'immuniser des Scolopendres par la méthode du froid, mais sans résultats précis ; l'inoculation préventive du premier vaccin, contre lequel la résistance des Scolopendres était parfaite, n'a pas augmenté, semble-t-il, la résistance du Myriapode vis-à-vis du Charbon virulent.

L'immunité, chez les Scolopendres, se manifeste exclusivement, pour KOWALEWSKY, par l'action phagocytaire des leucocytes et des cellules des glandes lymphatiques.

METALNIKOV, dans plusieurs séries de recherches, dont les premières datent de 1907, a étudié l'action de différents Bacilles sur les chenilles de *Galleria mellonella*. *Bacillus subtilis*, *B. fridlaenderi* tuent rapidement les chenilles inoculées. Ces deux Bacilles sont peu ou pas phagocytés ; cependant, en tuant le premier par chauffage à 120°, les leucocytes les englobent assez rapidement. *Staphylococcus aureus* et *albus* sont très énergiquement phagocytés, mais les leucocytes sont incapables de digérer les microbes englobés, l'infection se généralise donc, mais lentement. « Ainsi — dit l'auteur — pour l'immunité complète, il ne faut pas seulement la phagocytose, mais il est encore nécessaire que les phagocytes puissent digérer les Bacilles absorbés. » L'immunité des chenilles de *Galleria* contre le Bacille tuberculeux est complète. METALNIKOV a fait une étude très complète de ce cas d'immunité, mais les conclusions auxquelles il aboutit ne s'appliquent guère qu'au cas très particulier du Bacille tuberculeux humain. Déjà une demi-heure après l'inoculation, on peut observer des Bacilles dans le cytoplasme des phagocytes. Après une ou deux heures, les phagocytes qui ont englobé de grosses masses de microbes sont caractérisés par la présence de grandes vacuoles brunes où se détruisent plus ou moins rapidement les Bacilles phagocytés. La destruction des Bacilles est beaucoup plus intense encore dans les plasmodies qui se forment par coalescence de plusieurs phagocytes, que dans les phagocytes eux-mêmes. Les plasmodies sont assez rapidement entourés par les leucocytes du sang incapables de participer à la réaction de phagocytose et que METALNIKOV considère comme les formes jeunes ou embryonnaires. Il se constitue ainsi de véritables capsules de dimensions très variables, dont la structure

rappelle beaucoup celle des tubercules des Vertébrés infectés par le Bacille tuberculeux. METALNIKOV admet que « rien ne s'oppose, *a priori* à ce que le plasma sanguin puisse aussi renfermer des substances susceptibles de détruire le Bacille tuberculeux », mais ce n'est là qu'une supposition à laquelle l'auteur ne paraît pas attacher beaucoup d'importance.

La formation de tubercules dans lesquels la destruction du Bacille est particulièrement intense, caractérise l'immunité des chenilles de *Galleria mellonella* contre ce parasite bien mieux que la phagocytose par les leucocytes isolés. Cette réaction de l'organisme, d'un caractère si particulier, ne se rencontre guère que dans les cas d'infection par les Bacilles tuberculeux ou certains Bacilles acido-résistants voisins de ces espèces.

L'immunité des chenilles de *Galleria* contre le Bacille de la tuberculose des Poissons ne se manifesterait qu'à la température de 37°; c'est seulement à cette température que les leucocytes sont capables de digérer les Bacilles englobés. A basse température, les microbes s'accumulent dans les phagocytes et finissent par les détruire; ils retombent ensuite dans le sang où ils se multiplient activement.

Ces faits signalés par METALNIKOV à la suite de ses premières expériences sont intéressants; nous aurons lieu de confirmer et de compléter certaines des conclusions de cet auteur; mais nous ne le suivrons pas jusque dans sa conclusion finale où il dit qu'il est « hors de doute que l'immunité des chenilles vis-à-vis des différents microbes est intimement liée à la phagocytose et à la capacité des phagocytes de digérer des microbes déterminés. »

Tout récemment, METALNIKOV a repris ses études sur l'immunité des mêmes chenilles de *Galleria mellonella* contre quelques Bacilles pathogènes de l'Homme et un certain nombre de Saprophytes communs. Les deux mémoires qui résument ses travaux n'apportent que peu de faits nouveaux sur les réactions d'immunité, les conclusions qui se dégagent de ses nouvelles recherches ne font que renforcer les précédentes, et confirmer les idées générales sur l'immunité chez les Insectes, idées générales exposées dans les mémoires précédents. D'une manière générale, les microbes non pathogènes pour l'Homme seraient très pathogènes pour les chenilles de *Galleria* alors que les espèces qui causent les maladies infectieuses les plus connues (Diphtérie, Tétanos, Streptococcie, etc.), seraient inoffensifs pour ces mêmes chenilles. Pour METALNIKOV, les chenilles se défendent naturellement par la phagocytose et la formation de capsules. Jamais cet auteur n'a pu constater dans le sang la présence d'agglutinines, de bactériolysines, d'antitoxines. « C'est pourquoi, dit-il, nous pouvons affirmer que l'immunité naturelle des chenilles envers tous les microbes que j'ai étudiés est une immunité cellulaire. »

De même en ce qui concerne l'immunité acquise, « l'essentiel pour METALNIKOV, est le changement dans l'activité et la sensibilité des phagocytes. » D'après lui, les « cellules s'adaptent à des conditions nouvelles, changent leurs réactions. Les réactions négatives sont remplacées par des réactions positives; et

dans ces changements de la sensibilité et des réactions de la cellule, se trouve la cause principale de l'immunité acquise. »

En somme, la thèse soutenue par METALNIKOV est celle même que soutenait METCHNIKOFF, c'est la théorie cellulaire de l'immunité dans son intégralité.

D'après CANTACUZÈNE, les Invertébrés seraient capables d'élaborer des anticorps spécifiques, en particulier des hémolysines et des agglutinines, ainsi qu'il l'a démontré pour certains Crustacés marins. Mais ces anticorps ne paraissent jouer, dans l'immunité, qu'un rôle très secondaire.

A notre connaissance, GLASER est le seul auteur qui ait admis la possibilité d'une immunité humorale chez les Insectes. Etudiant la pathogénicité du *Bacillus poncei* (isolé de Sauterelles infectées dans le Gouvernement de Honduran) pour un Acridien, *Melanoplus femur-rubrum*, GLASER a observé qu'une certaine proportion des individus inoculés résistaient à l'infection. En prélevant une goutte de sang de ces Insectes en état d'immunité, et ajoutant une goutte de culture en bouillon du *B. poncei*, il a constaté que les Bacilles perdaient rapidement leur motilité, s'agglutinaient et perdaient leur vitalité. Il existerait donc, dans le sang des Insectes immunisés, des substances antagonistes, autrement dit, bactéricides; ces mêmes substances, d'après GLASER, peuvent exister aussi dans le sang des Insectes non encore en état d'immunité, mais leur présence n'est pas constante.

Avant d'entrer dans le détail de nos recherches personnelles sur l'immunité des Insectes contre les microbes entomophytes, il est utile d'indiquer dans quel esprit elles ont été poursuivies.

Imbu des idées de METCHNIKOFF sur le rôle de la phagocytose dans l'immunité, nous nous sommes proposé d'abord d'étudier le mécanisme de cette réaction d'immunité et de préciser l'importance du rôle qu'elle joue chez les Insectes. Quelques-uns de nos microbes entomophytes se prêtaient particulièrement à l'étude de la phagocytose, en raison de leur affinité particulière pour les éléments phagocytants du sang; c'est avec ces microbes que nous avons fait d'abord toutes nos expériences et que nous avons précisé les conditions générales et la vitesse d'englobement des microbes. Or les espèces expérimentées étaient toutes dans l'impossibilité de déclencher des réactions humorales dans le sang des Insectes inoculés. C'est fortuitement que nous avons découvert que toutes nos espèces microbiennes ne se comportaient pas, dans le sang des Insectes, comme les premières étudiées et que la phagocytose n'était pas la seule réaction importante d'immunité. Nous avons donc repris toute la partie expérimentale de notre travail sur l'immunité et les conclusions auxquelles nous sommes parvenu, infirment catégoriquement les conclusions qui découlaient de nos premières expériences, de même que celles des travaux divers relatifs à l'immunité chez les Insectes. Il nous est apparu que l'ensemble des réactions déclenchées dans l'organisme des Insectes en état d'infection constituait un tableau biologique d'une très grande complexité; ce tableau varie non seulement suivant les espèces d'Insectes et les microbes inoculés, mais aussi, peut-on dire, d'un individu à un

autre. Les différentes réactions qui constituent un même tableau biologique sont étroitement dépendantes les unes des autres, il serait donc rationnel de les étudier ensemble. Pour la clarté de l'exposition, nous étudierons séparément les réactions de type différent, par exemple celles que l'on considère comme étant de type cellulaire (phagocytose) et les réactions de type humoral, c'est-à-dire celles où les éléments figurés du milieu intérieur jouent le rôle principal.

LES RÉACTIONS CELLULAIRES D'IMMUNITÉ

La phagocytose est la plus connue de toutes ces réactions où les cellules paraissent jouer le rôle de premier plan. Nous avons vu que la plupart des auteurs la considéraient comme la plus importante de toutes et même, comme la seule réaction de défense de l'organisme vivant, dans l'immunité naturelle. Elle a pour siège certains éléments spécialisés du sang : les microphages ou phagocytes des Vertébrés, auxquels correspondent, chez les Insectes, des cellules de type bien particulier. Nous croyons utile de donner ici un résumé général de nos connaissances sur la cytologie du sang des Insectes.

Etude cytologique du sang des Insectes.

Le premier travail important sur la cytologie du sang des Insectes date de 1895 (CUÉNOT). Les recherches entreprises avant cette époque n'avaient donné que peu de résultats, en raison des moyens d'étude rudimentaires dont disposaient les cytologistes. Le simple examen à l'état frais ne permet pas, en effet, de distinguer facilement les différents types de cellules et d'en préciser les caractères structuraux ou les propriétés biologiques.

Parmi les auteurs anciens qui ont publié des mémoires se rapportant à la cytologie du sang des Insectes, nous pouvons citer : NEWPORT, qui, le premier, a signalé l'existence d'éléments cellulaires dans le sang de ces Invertébrés (1845); GRABER, dont les recherches ont porté seulement sur la forme et la dimension des globules, sur les granulations du corps cellulaire (ces granulations ont été confondues, à tort, par l'auteur, avec des globules de graisse), sur les réactions des éléments du sang aux divers agents chimiques ou physiques; CATTANEO (1889), qui n'apporta que peu de données nouvelles. De même CUÉNOT, dans une longue étude du sang dans la série animale (1891), ne donne que peu de détails sur celui des Insectes. Il ne distingue pas encore les différentes catégories d'éléments qu'il décrira plus tard chez les Orthoptères; ses observations ont toutes été faites sur le sang frais non fixé.

Avec son travail de 1896 sur les Orthoptères, commence véritablement l'étude systématique des cellules sanguines; pour la première fois des types bien caractérisés sont décrits. L'auteur distingue d'abord :

1° Des amibocytes de petite taille, à protoplasme peu abondant, à beau noyau présentant indubitablement des caractères de jeunesse. Ils se multiplient activement par mitose; ce sont des « éléments purement germinatifs »;

2° Des amibocytes de grande taille, à protoplasme abondant, homogène, à beau noyau. Ces cellules sont seules capables de phagocyter ; on n'observe jamais de mitoses, mais de simples divisions directes ;

3° Des amibocytes semblables aux précédents ou à noyau plus petit, dont le protoplasme renferme de fines granulations acidophiles qui finissent par remplir complètement le protoplasme ;

4° Le type précédent dégénéré, à volume diminué, dont les grains disparaissent ou se fondent dans le protoplasme généralement très colorable. Le noyau peut tomber en chromatolyse en se résolvant en petites boules séparées, très colorables.

« En somme — dit CUÉNOT — les globules comprennent des formes ascendantes (cellules germinatives et phagocytes), un état adulte (amibocytes à grains acidophiles) et des formes descendantes aboutissant à la disparition totale ». Les différents types de cellules ne représenteraient donc que des stades distincts de l'évolution d'un type initial, la cellule germinative. Cette conception a été celle de la plupart des auteurs qui ont étudié la question du sang des Insectes à la suite de CUÉNOT. Dans ses recherches plus récentes, recherches qui ont fait l'objet d'un petit mémoire publié en 1897, CUÉNOT n'apporte aucun fait nouveau digne d'être noté ; il rejette définitivement, cependant, la conception de glandes globuligènes productrices d'éléments du sang (primitivement, il admettait que les cellules péricardiales jouaient ce rôle).

L'important travail de KOLLMANN sur « les leucocytes et le tissu lymphoïde des Invertébrés », confirme, d'une manière générale, pour les Insectes, la thèse de CUÉNOT ; mais pour KOLLMANN, les noyaux doubles que l'on observe dans les leucocytes non granulés à cytoplasme abondant, ne sont pas le résultat d'une division directe, comme le pensait CUÉNOT : il y aurait là, plutôt, une véritable fragmentation nucléaire ; cette fragmentation en deux, ou même en plusieurs masses, est d'ailleurs un phénomène très général qui marque le terme de l'évolution du noyau des leucocytes. Nos observations personnelles ne nous ont pas permis de confirmer cette opinion de l'auteur ; la fragmentation du noyau, ou karyolyse, est un phénomène accidentel dont les causes peuvent être multiples ; dans le sang normal, de tels noyaux fragmentés apparaissent exceptionnellement.

En ce qui concerne les œnocytes, KOLLMANN les considère comme des éléments de taille toujours supérieure à celle des autres leucocytes, à protoplasme très acidophile, se reproduisant par division directe. Cet auteur, en considérant les œnocytes comme des éléments du sang, a commis la même erreur que nous avons commis nous-même dans une note à l'Académie, relative à la cytologie du sang des chenilles de Macrolépidoptères. Les œnocytes, signalés pour la première fois par WIELOWIESKY, sont en effet des cellules d'un type très particulier ; chez les larves de *Chironomus* et de *Corethra*, où elles ont tout d'abord été observées, elles se présentent comme de grosses cellules, colorées en rouge vineux, unies par des prolongements, aux cordons graisseux externes. Les œnocytes se rencontrent chez presque tous les Insectes au moins à l'état larvaire ; ils sont

rarement libres et ne peuvent être considérés comme des éléments normaux du sang. Nous verrons que l'erreur commise par KOLLMANN et par nous-même, avait pour cause, l'analogie de certains éléments du sang avec ces cellules.

Contrairement à CUÉNOT, KOLLMANN admet l'existence d'organes lymphogènes chez certains Orthoptères et peut-être aussi chez les chenilles de Lépidoptères.

METALNIKOV, dans ses « Recherches expérimentales sur les chenilles de *Galleria mellonella* », a donné un tableau détaillé des différents types d'éléments du sang de ces chenilles. Il distingue :

1° De petits leucocytes à noyau occupant presque tout le corps de la cellule ; ces éléments sont souvent le siège de phénomènes de caryocinèse ;

2° Des leucocytes plus grands que les précédents et seuls capables de phagocyter les substances étrangères ; selon toute probabilité, ces cellules représentent des stades plus anciens que les précédents ;

3° De grands leucocytes, au protoplasme granuleux et vacuolaire à petit noyau, mais en proportion moindre, dans le sang, que les deux autres espèces de leucocytes ;

4° De grandes cellules assez rares dans le sang, à protoplasme parfaitement homogène et à grand noyau.

Les éléments doués du pouvoir phagocytaire, peuvent, d'après l'auteur, s'agglutiner les uns aux autres et former de véritables plasmodium. Ces plasmodium ont été vus aussi par d'autres auteurs : KOWALESKY, CUÉNOT, SOUSLOV. METALNIKOV en a vu se former d'énormes chez les chenilles injectées de tuberculose ; il explique leur formation de la manière suivante : « En injectant des grains de carmin, on observe que ces grains se collent à la surface des phagocytes après quelques minutes ; la substance injectée fait donc excréter, aux phagocytés, un certain liquide visqueux, grâce auquel ils collent et retiennent à leur surface les corps étrangers ». Les plasmodium ainsi formés détruiraient mieux les microbes injectés, d'où leur rôle dans l'immunité. L'hypothèse est séduisante ; mais elle ne peut s'appliquer, croyons-nous, qu'à un nombre de cas très restreint. En ce qui nous concerne, nous n'avons jamais observé la formation de plasmodium destinés à renforcer la réaction de phagocytose.

Les travaux de HOLLANDE sur le sang des Insectes à hémorrhée (1909-1911) sont importants, moins par les faits nouveaux mis en lumière que par l'ordre et la précision qu'ils apportent dans nos connaissances sur la cytologie du sang des Insectes. L'auteur classe et nomme les éléments cellulaires ; il distingue ainsi dans le sang des chenilles :

1° Les *Proleucocytes*, qui représentent les cellules à gros noyau et mince couche cytoplasmique des auteurs déjà cités ; leur dimension varie de 6 à 9 μ ;

2° Les *Phagocytes*, qui proviennent directement des précédents ; leur forme est généralement celle d'un fuseau plus ou moins étiré ; l'auteur n'a pas observé de division indirecte ;

3° Les *Leucocytes granuleux*, rencontrés seulement dans le sang des chenilles d'*Hyponomeuta*;

4° Les *Oenocytoïdes*, à noyau très petit, à protoplasme très homogène, très brillant *in-vivo*. Ils correspondent, d'après l'auteur, aux éléments décrits par METALNIKOV sous le n° 4; on peut remarquer, toutefois, que les descriptions données par les deux auteurs, diffèrent sensiblement l'une de l'autre : l'un parle de gros noyau, l'autre, de petit noyau;

5° Les *Cellules à sphérules*, qui n'existent pas de façon constante dans le sang des chenilles; HOLLANDE les considère comme de petites sphères renfermant huit à dix grosses sphérules périphériques, incolores et réfringentes; souvent ces sphérules alternent plus ou moins régulièrement avec de petits granules à réaction acidophile.

Dans une thèse récente sur les métamorphoses d'un Lépidoptère (*Hyponomeuta padella* L.), Mme HUFNAGEL a décrit avec quelques détails les éléments normaux du sang des chenilles. Outre les proleucocytes de HOLLANDE, elle distingue : les *leucocytes jeunes*, qui ressemblent aux phagocytes de cet auteur mais leur rôle paraît très restreint dans l'englobement des débris histolysés; les *leucocytes âgés* ou *phagocytes* plus ou moins sphériques, ovalaires ou polygonaux au moment du repos. Ils sont amiboïdes ou présentent un bout allongé lorsqu'ils se déplacent. D'après les figures de l'auteur, le noyau de ces éléments est nettement plus petit que celui des *leucocytes jeunes*; « les granulations chromatiques sont très espacées, un nucléole peut exister ou non. Le suc nucléaire est très clair. Le cytoplasme éosinophile, contient quelques vacuoles. Il renferme quelquefois de minuscules granulations éosinophiles poussiéreuses. Ces cellules présentent un stade plus avancé des jeunes leucocytes à cytoplasme chromatophile. » Les *cellules à inclusions grasses*, non mentionnées par HOLLANDE, seraient fréquentes au moment de la nymphose, mais manqueraient chez l'adulte; on les trouverait aussi chez les très jeunes chenilles. « Il est probable — dit l'auteur — que les éléments en question sont des leucocytes modifiés et que cette modification a eu surtout lieu au moment de la métamorphose; elle consiste en ce que certains leucocytes se chargent abondamment de gouttelettes grasses qui se réunissent en une seule et repoussent le noyau à la périphérie ». Ces éléments correspondraient aux leucocytes granuleux modifiés de HOLLANDE. Les *leucocytes à granules*, qui représentent le 5° type décrit par Mme HUFNAGEL, sont assimilables, d'après les caractères morphologiques donnés, aux *Œnocytoïdes* de POYARKOFF et de HOLLANDE.

Il nous semble se dégager de cette étude historique sommaire une première conclusion : c'est la presque unanimité des auteurs à considérer la plupart des types cellulaires du sang des Insectes comme des stades du développement d'un type initial caractérisé par un noyau et une mince couche cytoplasmique (proleucocyte de HOLLANDE). Il n'apparaît pas cependant que cette opinion ait été appuyée de preuves suffisantes. D'autre part, les descriptions qu'en ont

faites les auteurs, ne concordent pas, bien que les Insectes étudiés soient assez voisins les uns des autres.

Nos études propres ont été faites sur différentes chenilles de Macrolépidoptères et sur quelques Coléoptères comme le Hanneton et les larves d'Elatérides. Chez les chenilles, on trouve principalement deux espèces d'éléments : les uns, à petit noyau formé de grains de chromatine assez bien séparés, à cytoplasme clair se colorant en bleu pâle par le colorant de GIEMSA ; les autres, à noyau nettement plus gros, à cytoplasme dense, se colorant en bleu foncé par le colorant de Giemsa. Dans le cytoplasme des premiers, on rencontre souvent des inclusions constituant vraisemblablement des substances de réserve ; souvent aussi, on constate la présence de petites granulations éosinophiles disposées sans ordre au milieu du cytoplasme (sang d'*Euproctis chrysorrhœa*, principalement). Ces éléments sont les seuls qui participent à la réaction de phagocytose ; nous avons vu aussi que ceux des chenilles d'*Euproctis*, réagissaient très curieusement à l'infection due au *B. melolonthae liquefaciens* γ (formation d'inclusions éosinophiles dans le cytoplasme). Au point de vue biologique, il semble que leur propriété fondamentale soit la participation active aux échanges et leur pénétration facile par les substances normales dissoutes (formation d'inclusions de réserve) ou les éléments anormaux, microbes ou autres. Nous leur avons donné le nom de *Micronucléocytes*. Les éléments à gros noyau, auxquels nous avons donné le nom de *Macronucléocytes*, ne phagocytent presque jamais et ne renferment pas d'inclusions dans leur cytoplasme ; examinés à l'état frais, ils se présentent généralement sous la forme arrondie ; cependant, si on les examine aussitôt après la sortie du sang de la chenille, ils peuvent affecter la forme de fuseaux plus ou moins allongés ; cette forme ne persiste pas longtemps : très rapidement les pointes du fuseau se rétractent et l'élément prend la forme arrondie. Les caractères morphologiques des macronucléocytes coïncident assez exactement avec ceux des phagocytes de HOLLANDE et des jeunes leucocytes de Mme HUFNAGEL. Suivant les espèces de chenilles, la dimension des *macronucléocytes* et des *micronucléocytes* varie dans des limites plus ou moins étendues ; leurs caractères morphologiques généraux restent cependant assez constants.

Outre ces éléments, on rencontre normalement des cellules à noyau semblable à celui des micronucléocytes, mais dont le cytoplasme renferme des sphérules régulièrement arrondies, fortement réfringentes, mais de nature non déterminée : ce sont les cellules à sphérules de HOLLANDE ; nous les considérons comme des micronucléocytes modifiés ; ils ne participent pas à la réaction de phagocytose ; leur rôle, dans l'économie, n'est pas connu ; il est possible que les sphérules soient constitués par des substances de réserve, dans ce cas la cellule sphéruleuse serait l'équivalente de la cellule adipeuse.

Les *œnocytoïdes* dont les caractères morphologiques ont été déjà précisés par les auteurs que nous avons cités, existent normalement dans le sang de toutes les chenilles, mais en proportion très faible (en général, moins de 5 0/0 du nombre total des éléments). A l'état frais, ils se distinguent nettement de tous

les autres éléments par leur forme assez régulièrement arrondie, par leurs contours très précis et la réfringence plus grande de leur cytoplasme. Les granules qui remplissent l'intérieur du cytoplasme, n'apparaissent qu'après coloration. On ne sait rien de leur rôle dans l'économie.

En résumé, on peut distinguer, dans le sang des chenilles : les micronucléocytes, les macronucléocytes, les micronucléocytes à sphérules, les œnocytoïdes ; chez quelques espèces, on trouve, en outre, des micronucléocytes à grains éosinophiles et des éléments doués de la propriété de phagocyter, mais dont le noyau diffère, par sa taille nettement plus grande, de celui des Micronucléocytes normaux. Toutes ces cellules sont caractérisées par leur forme très aplatie. Elles sont toutes capables de se diviser par mitose, même les œnocytoïdes (Pl. II, 20-22). Les cellules-filles qui résultent de la division caryocinétique, présentent les caractères de la cellule-mère ; autrement dit, les micronucléocytes donnent naissance à des micronucléocytes, les macronucléocytes, à des macronucléocytes, etc. Nous avons représenté, dans les planches I et II, les différentes phases du processus caryocinétique, il est donc inutile d'en faire l'objet d'une longue description. Nous ferons seulement remarquer que les fuseaux achromatiques et les centrosomes font complètement défaut dans les cellules en voie de division ; la plaque équatoriale est ici réduite à une bande médiane formée de chromatine condensée. Quand les deux cellules-filles se séparent, on observe, pendant un certain temps, entre les deux éléments, une trainée chromatique dont nous ignorons la signification. (Pl. I et Pl. VIII).

La cytologie du sang de Hanneton ou du Ver blanc, diffère

très sensiblement de celle du sang de chenille. Nous avons représenté, dans la fig. 59, les différents types d'éléments rencontrés dans le sang normal du Hanneton : on distingue d'abord des cellules fusiformes ou arrondies (a) à noyau assez volumineux formé de grains de chromatine bien séparés les uns des autres, à couche cytoplasmique plus ou moins basophile (colorable en bleu par le Giemsa ou le Tribondeau) ; ces éléments possèdent, à un faible degré, il est vrai, le pouvoir d'englober les microbes ; puis des cellules à petit noyau formé de chromatine très condensée (b), à couche cytoplasmique remplie de grosses granulations très

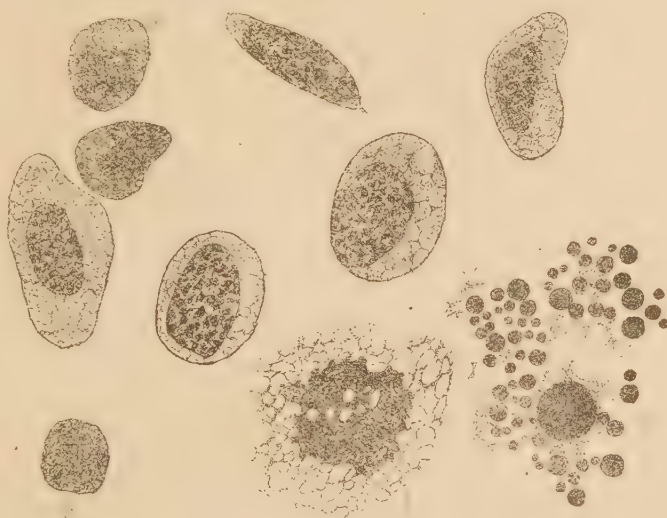


Fig. 59

fortement chromatophiles; nous ne connaissons rien du rôle physiologique de ces éléments. Ces deux types de cellules paraissent les plus abondants dans le sang normal. On rencontre en outre des éléments réduits à leur noyau (*c*) et d'autres (*d*) dont le noyau est volumineux mais plus ou moins vacuolaire.

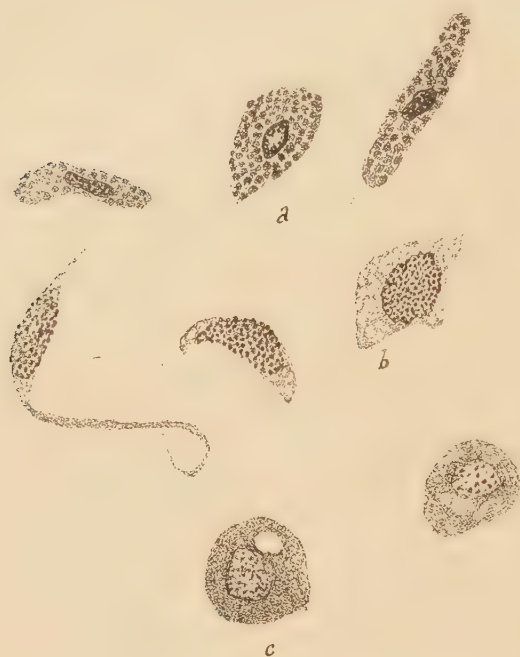


Fig. 60.

Dans le sang des larves d'*Elater*, on observe deux types principaux de cellules : les unes, à petit noyau (fig. 60; *a*) formé de chromatine plus ou moins condensée, inégalement répartie (la périphérie est généralement plus intensément colorée que la partie centrale); la couche cytoplasmique affecte une forme généralement allongée; elle n'est pas homogène mais paraît former de petites masses arrondies, qui se colorent beaucoup moins intensément que les granulations des éléments correspondants du sang de Hanneton. Les autres cellules sont de formes arrondies ou fusiformes (*b*); elles possèdent un gros noyau formé de grains de

chromatine bien séparés. On rencontre enfin, mais en proportion très faible, des cellules telles que (*c*) dont le noyau est intermédiaire entre celui des deux autres éléments; la couche cytoplasmique se colore plus intensément que celles des éléments à gros noyau, et présente une structure assez homogène.

LA PHAGOCYTOSE

Mécanisme de la phagocytose.

LEVADITI et MUTTERMILCH étudiant le mécanisme de la phagocytose du Trypanosome de Nagana par les globules blancs de Cobaye, ont montré que ce phénomène comportait les phases suivantes :

- 1° L'attachement de l'objet phagocytable sur le leucocyte ;
- 2° L'englobement proprement dit et la destruction du Trypanosome. La première phase de la réaction serait d'ordre physico-chimique et pourrait se comparer, par exemple, au phénomène de l'agglutination ; elle aurait lieu en dehors de toute activité vitale du phagocyte. Néanmoins, le phénomène de l'attachement peut être considéré comme spécifique. L'attachement ne résulte pas d'une attraction du Leu-

cocyte par le Trypanosome sensibilisé, mais « plutôt de la rencontre fortuite du phagocyte et du Trypanosome. »

La deuxième phase de la phagocytose est un phénomène essentiellement vital.

Par le moyen du cinématographe, COMMANDON a pu montrer que les leucocytes du sang étaient effectivement attirés par les grains d'amidon, qu'ils poussaient des pseudopodes dans leur direction et se déplaçaient assez rapidement vers eux ; les grains étaient ensuite englobés par le moyen des prolongements protoplasmiques.

Les conclusions de LEVADITI et MUTTERMILCH et celles de COMMANDON, diffèrent notablement les unes des autres ; on ne peut dire cependant, que les unes ou les autres ne sont pas conformes à la vérité car elles se rapportent à des objets de nature très différente.

Etude du mécanisme de la phagocytose chez les Insectes.

De tous nos microbes entomophytes, c'est le *Bacillus liparis* qui convient le mieux pour l'étude du processus de la réaction de phagocytose. Si l'on inocule dans la cavité générale d'une chenille d'*Euproctis chrysorrhoea*, une émulsion concentrée de Bacilles, on observe les phénomènes suivants :

1^o D'abord, une hypoleucocytose très intense, aussitôt après l'inoculation ; ce phénomène n'est pas particulier au *B. liparis*, mais se produit toutes les fois qu'on inocule dans la cavité générale, une émulsion microbienne quelconque ; même la simple injection d'eau physiologique suffit pour déterminer l'hypoleucocytose. Le chimiotactisme négatif dont semblent faire preuve les éléments sanguins vis-à-vis des microbes inoculés, n'est, en réalité, qu'une simple réaction d'ordre physique ou physico-chimique. Le phénomène est d'ailleurs très général : on l'observe chez les Vertébrés comme chez les Invertébrés. Peu après l'inoculation, l'équilibre se rétablit entre le plasma sanguin et ses éléments cellulaires, mais ce retour à l'état d'équilibre s'explique suffisamment par l'équilibre physico-chimique entre le sang et le liquide injecté, sans qu'il soit nécessaire de faire intervenir une propriété vitale des phagocytes. Le fait vulgaire suivant confirme cette manière de voir : lorsqu'on fait une émulsion microbienne en délayant une parcelle de culture sur gélose dans une goutte d'eau physiologique, on constate dès qu'on approche de l'eau la culture microbienne, un mouvement correspondant du liquide en dehors, comme si les microbes chassaient effectivement l'eau.

BORDET a donné de l'hypoleucocytose observée chez les Vertébrés, l'explication suivante : « les inoculations intravasculaires — dit-il — déterminent une hypoleucocytose ou leucopénie, qui affecte tout particulièrement les polynucléaires ; parfois, en quelques instants, ceux-ci disparaissent presque complètement du sang. Chose remarquable, bien que l'injection de particules et notamment de microbes, soit particulièrement apte à provoquer cette baisse considérable de la teneur du sang en leucocytes, l'introduction de liquides limpides, bouillon, peptone et même solution physiologique de chlorure de sodium, produit des effets analogues, bien que, d'habi-

tude, beaucoup moins marqués. Il s'agit d'une sorte de choc dû à l'altération de la composition du liquide circulant et sans doute, à un trouble de l'équilibre colloïdal ».

METALNIKOV, pour expliquer l'hypoleucocytose chez les Insectes, a exprimé une opinion toute différente ; après avoir constaté que l'inoculation de microbes virulents

dans la cavité générale des chenilles de *Galleria mellonella* détermine une diminution considérable du nombre des leucocytes, il émet l'hypothèse que cette diminution doit avoir pour cause l'action de substances toxiques sur le système phagocytaire. Mais les phagocytes s'habituant rapidement au poison, le sang redevient peu à peu normal. Cette théorie n'est guère défendable, après ce qu'on sait de l'action de l'eau physiologique, ou de celle d'autres liquides non toxiques.

2° Quelques minutes après l'inoculation de l'émulsion microbienne, on observe qu'une certaine proportion de Bacilles sont déjà dans l'intérieur du cytoplasme

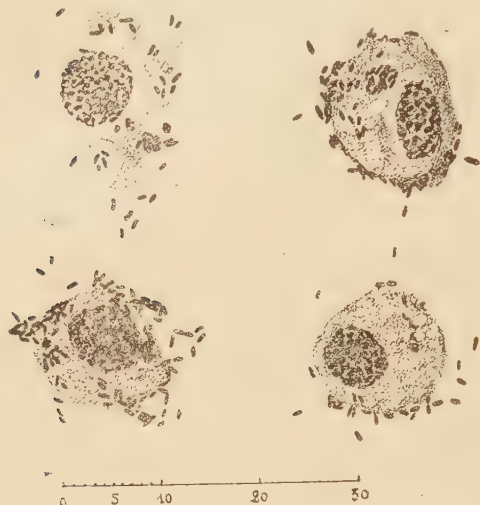


Fig. 61.

des micronucléocytes et que beaucoup d'autres sont accolés à la surface de ces éléments (fig. 61). Suivant quel processus se fait l'englobement des Bacilles ? Les partisans de la théorie cellulaire de l'immunité, METALNIKOV en particulier, admettent que les éléments cellulaires sont doués d'une sensibilité tactile particulière, qui se manifeste par un déplacement dans la direction du microbe ou par l'éloignement dans une direction opposée. Ce déplacement est rendu possible par la formation de pseudopodes analogues à ceux de l'Amibe ; les pseudopodes serviraient d'autre part, à l'englobement des microbes ou des substances étrangères susceptibles d'être phagocytées. Le sens du tactisme des éléments phagocytants, n'est pas immuable pour une même espèce microbienne ; il peut même changer complètement, et de négatif, devenir positif, ainsi qu'on l'observe après une première inoculation de microbes morts ou de virulence moyenne.

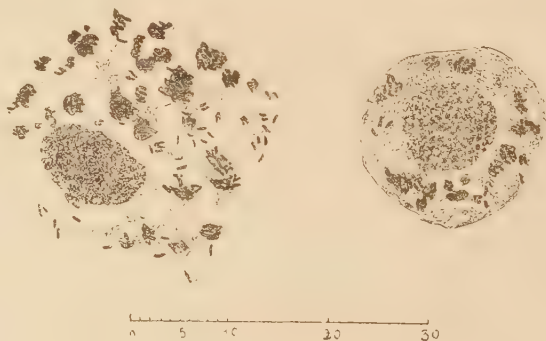


Fig. 62.

Cette théorie de la phagocytose, en ce qui concerne plus particulièrement les Insectes, ne repose guère que sur des analogies ; METALNIKOV, qui la défend, n'a jamais donné de preuves décisives du rôle actif des leucocytes dans le processus phagocytaire, et nous entendons par rôle actif, celui qui consiste, pour le leucocyte

en déplacement et préhension des microbes introduits dans l'organisme. Nos observations propres et celles d'autres auteurs, comme GLASER, tendraient plutôt à nier ce rôle actif des phagocytes. Si l'on observe par exemple, en goutte pendante, une goutte de sang de chenille tenant en suspension des microbes provenant d'une culture de *B. liparis*, il est impossible de déceler le moindre mouvement amiboïde des micro-nucléocytes ; et, cependant, *B. liparis* est un microbe très phagocytable. GLASER, en étudiant une culture *in-vitro* d'éléments du sang de *Melanoplus atlanis* Ritey, a constaté, au cours d'une observation poursuivie pendant plus de deux semaines, que les différentes catégories d'éléments restaient absolument passifs. De même, en observant dans les mêmes conditions que précédemment, un mélange de sang de *Melanoplus* et de *Coccobacillus acridiorum*, le même auteur a constaté la complète passivité des éléments phagocytants vis-à-vis du Coccobacille. Les microbes qui pénètrent dans ces éléments, semblent forer la couche cytoplasmique, mais ils ne sont jamais englobés par des pseudopodes. GLASER conclut de ses observations, que, dans le mélange

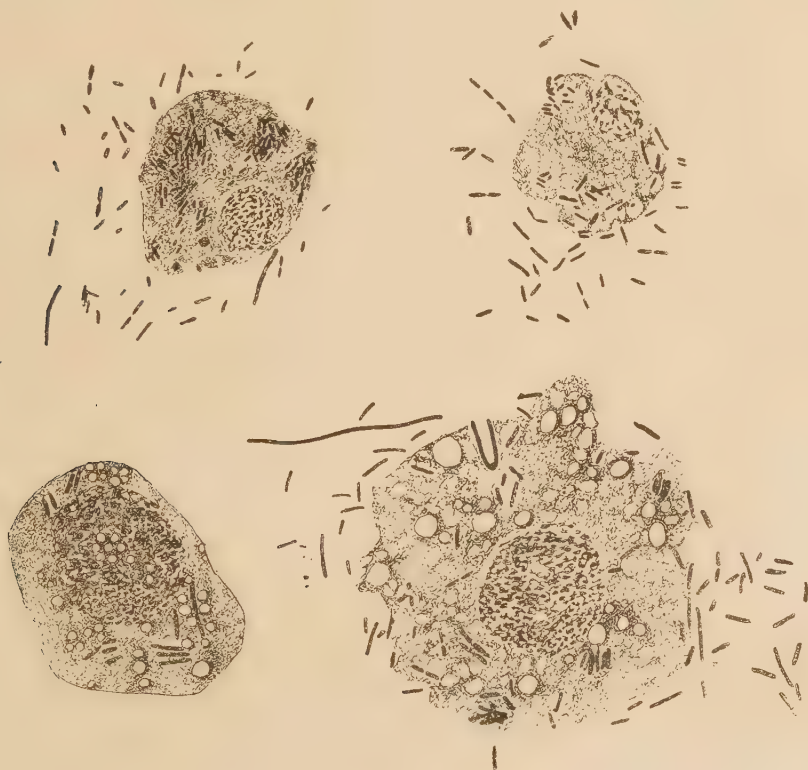


Fig. 63.

cellules sanguines-Bactéries, ce ne sont pas les cellules qui sont les véritables agresseurs, mais bien plutôt, les microbes. C'est aussi la conclusion qui découle de toutes nos observations.

Lorsqu'on introduit, par inoculation, des microbes dans la cavité générale des Insectes, on réalise un mélange d'abord très hétérogène, qui tend à s'équilibrer peu à peu ; microbes et cellules sanguines sont alors en suspension homogène dans le

plasma. En admettant que les cellules phagocytantes soient douées de propriétés tactiles, elles seraient sollicitées de tous les côtés à la fois et la résultante de toutes ces forces serait théoriquement nulle ; le déplacement ne pourrait avoir lieu. Dans le cas du *B. liparis* et de beaucoup d'autres espèces, il est indéniable qu'une affinité très marquée existe entre les microbes et les cellules, puisque, *in vivo* tout au moins, on assiste à une élimination rapide des Bacilles du sang par phagocytose. Cette affinité ne peut se manifester, croyons-nous, que par un déplacement des microbes vers les éléments phagocytants, [et non par un mouvement de ces derniers vers les microbes ; l'attraction des cellules ne se manifeste que dans un très faible rayon, de l'ordre de grandeur du microbe tout au plus. *In vitro* même, on ne peut constater l'existence d'un tel déplacement. *In vivo*, les éléments du sang participent du mouvement général de circulation et se déplacent suivant les courants ordinaires ; ce déplacement passif favorise dans une certaine mesure l'élimination des microbes ; mais la cause initiale de la phagocytose reste en dehors de ces mouvements de masse ; comme beaucoup d'auteurs l'admettent, elle est d'ordre physico-chimique et s'explique vraisemblablement, par l'intervention des forces capillaires.

3° Les microbes étant collés à la surface de l'élément phagocytant, leur pénétration dans le cytoplasme s'effectue sans l'intervention de prolongements protoplasmiques ou pseudopodes ; le processus intime de cette pénétration nous échappe ; peut-être les microbes, mouillés par la substance cytoplasmique, sont-ils entraînés dans l'intérieur avec cette substance elle-même ; on sait en effet que le cytoplasme des cellules ordinaires est animé de mouvements incessants qui se manifestent par un déplacement de cette substance suivant des courants déterminés. La pénétration dans la cellule est certainement favorisée par l'absence d'une membrane cellulaire, isolant celle-ci du milieu sanguin. D'autre part, la tension superficielle de la substance constituant le microbe est telle, que celui-ci est mouillé par le cytoplasme et peut s'y incorporer directement. Dans le cas particulier du *B. liparis*, on ne constate pas la formation de vacuoles au sein desquelles les microbes incorporés subissent l'influence digestive des ferments leucocytaires ; nous pouvons même ajouter que cette vacuolisation, dont METCHNIKOFF expliquait la formation par le rabattement des pseudopodes sur la proie englobée, paraît exceptionnelle ; nous ne l'avons observée que dans des cas assez rares et nous ne la considérons pas comme une phase ordinaire du processus phagocytaire. (Phagocytose de *B. melolonthæ non liquefaciens* α par les cellules sanguines d'*E. chrysorrhæa*, fig. 63.)

Les micronucléocytes du sang de chenilles participent seul en général, à la réaction de phagocytose ; mais il peut arriver, lorsqu'on a affaire à des microbes très phagocytibles, comme *B. liparis*, par exemple, que les autres éléments englobent aussi un plus ou moins grand nombre de microbes : c'est ce que nous avons observé après inoculation du *B. liparis*, dans le sang des chenilles de *Pieris brassicæ* (fig. 64 ; voir aussi fig. 63). On constate aussi que les cellules en voie de division caryocinétique peuvent phagocyter comme les cellules à l'état de repos (fig. 65) ; HOLLANDE soutient au contraire, que les phagocytes sont inaptes à la phagocytose pendant tout le temps de leur division.

4° La dernière phase de la réaction de phagocytose, c'est-à-dire, la digestion.

des microbes incorporés, ne se produit pas dans le cas du *B. liparis*. (Voir fig. 62 représentant des micronucléocytes d'*Euproctis* 5 heures après l'inoculation). Ces Bacilles peuvent même subsister plusieurs semaines dans le cytoplasme des micronucléocytes, sans altération sensible. Ainsi, des chenilles d'*E. chrysorrhœa* inoculées le 16 mai, ne s'étaient pas encore débarrassées de leurs Bacilles le 4 juin, soit : dix-neuf jours après l'inoculation. A cette date, plus de la moitié des micronucléocytes renfermaient encore d'assez nombreux Bacilles d'apparence normale. Même après vingt-quatre jours, l'aspect du sang de trois des chenilles en expérience, ne s'était pas sensiblement modifié ; la quatrième s'était transformée en chrysalide dans l'intervalle et nous

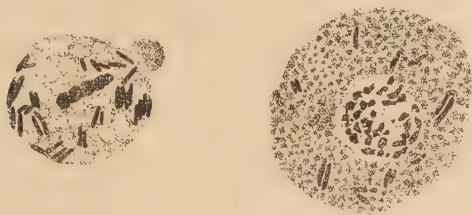


Fig. 64.

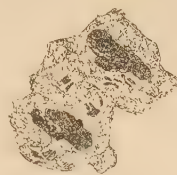


Fig. 65.

n'avons pu déterminer avec certitude la présence de Bacilles dans le liquide cavitaires. Il ne faudrait pas déduire de cette dernière observation, que le liquide cavitaires des chrysalides détruit activement les microbes d'infection ou que la digestion intracellulaire est plus active dans ce liquide que dans le sang des chenilles : en effet, dans une autre expérience d'inoculation faite le 20 juillet sur deux chenilles adultes de *Lymantria dispar*, avec une culture sur gélose d'un mois, nous avons observé, à la date du 4 août, c'est-à-dire deux jours après leur transformation en chrysalide :

1° Dans le liquide cavitaires d'une des chrysalides, des microbes d'infection secondaire et des Bacilles d'inoculation, en voie de développement (Bacilles longs).

2° Dans celui de l'autre chrysalide, des Bacilles non altérés, visibles dans les micronucléocytes en voie de transformation.

Lorsque la quantité de Bacilles injectés dans la cavité générale des chenilles est considérable, la phagocytose a pour résultat, la destruction d'une proportion plus ou moins élevée de micronucléocytes. Dans le cas d'une injection moyenne, on observe souvent, dans le sang, d'énormes amas de Bacilles résultant de l'accumulation de ceux-ci dans certains micronucléocytes (fig. 62). Le fait que ces cellules continuent de phagocyter après que leur vitalité a été sûrement détruite, est une preuve nouvelle de la nature essentiellement physico-chimique de la réaction de phagocytose.

Bacillus liparis est donc à la fois le plus phagocytable de nos microbes entomophytes et le plus résistant à l'action destructive intraleucocytaire. C'est aussi l'un de ceux qui résistent le mieux à l'action nocive des humeurs. Aussi n'observe-t-on aucune différence dans le processus des réactions entre les chenilles qui ont été inoculées plusieurs fois et celles qui le sont pour la première fois.

Quels sont les facteurs adjuvants de la phagocytose ?

Il est aujourd'hui bien démontré que chez les animaux immunisés contre une maladie infectieuse microbienne, à la suite de l'inoculation de microbes vivants, de microbes morts ou de produits microbiens, la phagocytose se manifeste avec une énergie plus grande que chez les animaux neufs. Nous avons fait de semblables constatations chez les Insectes, mais la loi n'est pas générale : l'exemple du *B. liparis* dont il vient d'être question, est à cet égard, particulièrement démonstratif. La théorie actuelle explique l'accroissement du pouvoir phagocytaire, par l'action d'une substance dissoute dans le sang, qui n'apparaît qu'au moment de la vaccination. BORDET envisage deux hypothèses sur le rôle de cette substance hypothétique : « Ou bien, dit-il, la substance que le serum fournit agit sur les phagocytes pour renforcer leur puissance, se comportant ainsi comme une stimuline ; ou bien, elle impressionne les microbes de façon à les rendre aisément phagocytés. » La première hypothèse est celle que défend METALNIKOV : en conclusion de son étude sur « l'immunité naturelle et acquise chez la chenille de *Galleria mellonella*, » cet auteur écrit « ainsi nous pouvons affirmer que dans tous les cas d'immunité acquise étudiés par nous, l'essentiel est le changement dans l'activité et la sensibilité des phagocytes. On peut dire que les cellules s'adaptant à des conditions nouvelles, changent leurs réactions. Les réactions négatives sont remplacées par des réactions positives. Et dans ces changements de la sensibilité et des réactions de la cellule, se trouve la cause principale de l'immunité acquise. » Pour BORDET, au contraire, la deuxième hypothèse est celle qui paraît le plus conforme à la réalité. « Ce qui distingue, dit-il, l'organisme vacciné de l'organisme neuf, ce sont les matières dissoutes dans les humeurs, et non les qualités propres aux phagocytes ».

La conception de METALNIKOV est rigoureusement conforme à l'esprit de la doctrine de METCHNIKOFF ; elle fait des phagocytes, les seuls éléments capables d'assurer l'immunité de l'organisme vivant et, pour rappeler une vieille formule, les considère comme les soldats chargés de la défense de l'organisme contre les infections.

L'hypothèse admise par BORDET, est de nature moins spéculative que celle de METALNIKOV ; elle s'appuie sur des faits d'observation indiscutables ; on ne peut nier, en effet, que les microbes subissent dans le sang des animaux en état d'immunité acquise, des altérations qui modifient plus ou moins profondément leur vitalité et leurs propriétés physico-chimiques. En étudiant le mécanisme des réactions humérales chez les Insectes, nous montrerons aussi que les microbes subissent, dans l'organisme de ces animaux, des modifications de même nature pouvant aller jusqu'à la transformation du mode de développement et même, jusqu'à leur destruction complète. Il paraît logique, d'attribuer à ces altérations de la substance microbienne, la cause des variations d'intensité de la phagocytose, bien plus qu'aux changements survenus dans le tactisme des phagocytes.

On admet généralement que les modifications physico-chimiques, celles concernant par exemple la tension superficielle de la substance microbienne, qui aboutissent à l'accroissement de la phagocytabilité des microbes, sont le résultat de l'action d'une substance existant normalement dans le sang ou élaborée à la suite de la vacci-

nation ; cette substance hypothétique, à laquelle on a donné le nom d'opsonine, préparerait les microbes ou mieux, les sensibiliserait à l'action des phagocytes ; elle se fixerait sur eux à la manière des mordants en teinture ; cette hypothèse est séduisante et repose sur de nombreux faits d'expérience. En ce qui concerne les Insectes, nous ne pensons pas qu'il soit nécessaire, pour expliquer l'acte de la phagocytose lui-même ou les variations d'intensité de la réaction après vaccination, de supposer l'existence d'une telle substance sensibilisante particulière. Nous montrerons en effet, que les mêmes causes qui déterminent la transformation morphologique et probablement chimique et physico-chimique des microbes, déterminent, souvent aussi, un accroissement notable de leur phagocytabilité. Or, dans les cas les plus typiques, il est possible de démontrer que les causes d'altération des microbes ne sont pas dues à l'action d'anticorps particuliers, en solution dans le sang, ainsi que l'admettent la plupart des Bactériologistes. Ces cas peuvent constituer, il est vrai de simples exceptions à la règle générale ; cependant, les faits que nous avons observés jusqu'ici nous incitent à penser que la théorie que nous adoptons, est susceptible de généralisation, au moins chez les Insectes.

Influence de la température sur la phagocytose.

Chez les Vertébrés à sang chaud, les variations de la température du corps sont insignifiantes par rapport à celles du milieu dans lequel ils vivent ; l'étude de l'action de la température sur la marche des réactions d'immunité, n'offre qu'un médiocre intérêt. Chez les Invertébrés, au contraire, le rôle de la température peut être très important, d'autant plus, que l'échelle des variations est très étendue. Cette étude, en ce qui concerne les Vertébrés, a été faite par LEDINGHAM en 1908 ; cet auteur observa que, dans un mélange de sérum normal et de Staphylocoques soumis pendant un temps déterminé à des températures variables, le nombre des microbes englobés par les phagocytes diminuait plus ou moins régulièrement avec la température : cette diminution, au moins lorsque la température est comprise entre 37° et 18°, paraît due à la réduction du taux de combinaison de l'opsonine du sérum avec les Staphylocoques. Le même auteur montra que le contact prolongé du sérum avec les microbes, à basse température (18° à 7°) déterminait un maximum d'absorption de l'opsonine par les Cocci (maximum correspondant à la température de l'expérience), de sorte que la phagocytose subséquente restait la même que la température soit 37° ou 18°.

Ainsi, pour LEDINGHAM, la phagocytose est surtout fonction de la sensibilisation des microbes par l'opsosine du sérum : la température intervient seulement pour accélérer cette sensibilisation et non pour accroître l'énergie phagocytaire des leucocytes. Il émet d'ailleurs l'opinion que la phagocytose est, avant tout, un effet de la tension superficielle et que « l'énergie amiboïde » ne joue qu'un rôle secondaire dans le processus de cette réaction d'immunité.

Nos expériences propres ont été faites avec *Bacillus liparis*.

Deux chenilles de *Lymantria dispar* d'égale grosseur, sont inoculées à la même heure avec une même quantité d'une émulsion de Bacilles provenant d'une

culture sur gélose de 3 jours. L'une des deux chenilles est laissée à la température du laboratoire (19°), l'autre est placée à l'étuve à 33°. Le sang de chacune est examiné sur frottis coloré, après un contact de 10 minutes, 20 minutes, 40 minutes et 1 heure avec les Bacilles.

Après 10 minutes, la phagocytose est à peine commencée ; la très grande majorité des micronucléocytes de l'une et l'autre chenilles ne renferment aucun Bacille ; on observe cependant que quelques-uns de ceux-ci sont collés sur les bords de certaines micronucléocytes, dans le sang de la chenille placée à l'étuve.

Après 20 minutes, l'aspect du sang de la seconde chenille est peu changé ; dans celui de la première, au contraire, la majorité des micronucléocytes renferment des Bacilles dans leur cytoplasme ou en retiennent sur leur pourtour ; le nombre des Bacilles libres est très diminué et la différence d'aspect du sang de chaque chenille est très accentuée.

Après 40 minutes de contact, la différence s'accroît encore : les Bacilles libres sont nombreux dans le sang de la chenille maintenue à la température de 19°, alors qu'ils sont devenus relativement rares dans celui de l'autre chenille (moins de un par champ microscopique).

Après une heure, la réaction est à peu près terminée dans le sang de cette chenille, tandis qu'elle ne le sera qu'après cinq heures dans celui de l'autre.

La même expérience a été répétée quelques jours après, mais la différence d'aspect du sang des deux chenilles inoculées n'a pas été aussi accusée que dans l'expérience précédente.

Dans une troisième expérience, quatre chenilles de *L. dispar* ont été inoculées avec la même émulsion de *B. liparis* : deux furent maintenues à la température de 18°, les deux autres à la température de 33°. Après deux heures et demie, la réaction de phagocytose était presque terminée dans le sang des deux dernières, tandis que dans celui des deux autres, elle ne l'était pas encore quatre heures après l'inoculation.

Dans une autre série d'expériences, poursuivies au cours de la saison d'hiver, des chenilles de *Pieris brassicæ* inoculées avec une émulsion de Bacilles provenant d'une culture sur gélose de cinq jours, furent maintenues : les unes à température très basse (voisine de 0°), les autres, à température de 24 et 30°. Dans le sang des premières chenilles, la réaction de phagocytose fut très ralentie et n'était généralement pas encore terminée après 24 heures. Dans celui des chenilles placées à l'étuve, la réaction fut beaucoup plus accélérée ; mais le plus souvent, les chenilles ne purent résister à l'infection et succombèrent après un temps variable pour chacune d'elles. Beaucoup de celles qui paraissaient résister à l'infection, à basse température, et dans le sang desquelles on ne rencontrait qu'un nombre insignifiant de Bacilles libres, s'infectaient ensuite peu après leur mise à l'étuve. Ce fait d'expérience montre que les chenilles de *Pieride* sont incapables de s'immuniser contre le *B. liparis* ; ce manque de résistance est bien plus un effet de la résistance offerte par les Bacilles à l'action destructive du sang, qu'une conséquence de l'inaptitude des phagocytes à modifier leur tactisme. Le même fait d'expérience constitue une première preuve en faveur de l'hypothèse que nous avons adoptée pour expliquer les variations de phagocytose.

bilité des microbes, dans l'organisme des Insectes inoculés : il montre, en effet, qu'un microbe sur lequel le sang est sans action, conserve toujours sa même affinité pour les éléments phagocytants.

Les conclusions de nos expériences sur le rôle de la température dans la phagocytose, confirment, d'une manière générale, celle de LEDINGHAM : l'intensité de la phagocytose décroît plus ou moins régulièrement avec la température. A quelle cause peut-on attribuer cette diminution d'intensité de la réaction ? En admettant, comme LEDINGHAM, l'existence d'un anticorps particulier (opsonine) préparant les microbes, les sensibilisant à l'action des phagocytes, on peut logiquement soutenir l'opinion que l'action de la température s'exerce en modifiant le taux de combinaison de cette substance hypothétique sensibilisante, avec les microbes. Mais une telle explication repose sur deux hypothèses : il faut d'abord supposer l'existence de l'opsonine, puis il faut admettre que le taux de combinaison de cette substance avec les microbes augmente ou diminue avec la température. L'école de METCHNIKOFF expliquerait les variations d'intensité de la phagocytose par l'augmentation ou la diminution de l'énergie phagocytaire sous l'influence directe de la température ; mais il faudrait alors admettre que le phagocyte vit d'une vie propre, qu'il agit à la manière d'une Amibe dont les mouvements seraient plus ou moins paralysés par l'abaissement de la température du milieu dans lequel elle évolue. Cette conception, de nature essentiellement finaliste, est très séduisante, mais elle ne résiste pas à la critique et elle est en contradiction avec la plupart des faits d'expériences ou d'observations signalés jusqu'ici.

En étudiant le mécanisme de la phagocytose, nous avons dit que cette réaction résultait moins d'un jeu des forces vitales proprement dites, que de forces mécaniques ayant pour origine les rapports de surface entre deux corps de nature essentiellement différente : le phagocyte d'une part, le microbe d'autre part. Ces rapports de surface ne sont pas immuables et on comprend que l'action de la chaleur ou celle du refroidissement, qui modifient plus ou moins la viscosité du sang, modifient par cela même, les affinités entre microbes et phagocytes.

L'explication que nous donnons du rôle de la température dans la phagocytose, est malheureusement très insuffisante ; mais on connaît très mal encore les lois qui régissent les rapports des colloïdes entre eux, surtout lorsque ces colloïdes font partie d'organismes vivants. Quand on connaîtra mieux cette branche de la chimie biologique, il est probable que le mécanisme intime de la phagocytose comme celui de toutes les autres réactions d'immunité, s'expliquera très simplement et qu'il ne sera pas nécessaire de faire intervenir des propriétés vitales de cellules ou de substances particulières élaborées par les leucocytes.

LA RÉACTION DE CARYOCINÉTOSE

Nous avons considéré la phagocytose comme une réaction cellulaire, et cependant, on ne peut dire qu'elle soit exclusivement cellulaire, puisque, très souvent, son intensité est fonction de propriétés humorales particulières du milieu sanguin.

La deuxième réaction que nous allons étudier, paraît être au contraire, du type exclusivement cellulaire. Nous l'avons signalée pour la première fois, en 1919, et décrit sous le nom de Caryocinétose. La première observation qui se rapporte à cette réaction date de fin mai 1918 ; elle a été faite à la suite de l'expérience suivante :

Quatre chenilles d'*Euproctis chrysorrhœa* de différentes grosseurs étaient inoculées le 28 mai, avec une émulsion de *Bacillus melolonthæ non liquefaciens* γ provenant d'une culture sur gélose de huit jours et maintenues à la température du laboratoire (17° environ) ; 24 heures après l'inoculation, les deux plus petites chenilles mouraient infectées ; les deux autres paraissaient normales, et dans leur sang, on ne rencontrait aucun Bacille libre. Par contre, les micronucléocytes englobaient dans leur cytoplasme, d'assez nombreux Bacilles normaux et granules (ces derniers résultant de l'action destructive du plasma sanguin sur les Bacilles). La formule leucocytaire du sang de l'une des chenilles était la suivante : micronucléocytes : 40 % ; — cellules sphéruleuses : 7 % ; — petits macronucléocytes (proleucocytes de Hollande) : 1,5 % ; — macronucléocytes fusiformes ou arrondis : 48,5 % ; — œnocytoïdes : 1 %.

Formule leucocytaire du sang de l'autre chenille : micronucléocytes : 32,5 % ; — cellules sphéruleuses : 23 % ; — petits macronucléocytes : 1 % ; — macronucléocytes : 43 % ; — œnocytoïdes : 1 %.

Dans chacune des deux chenilles, la proportion des éléments en voie de caryocinèse, ne dépassait pas la normale, c'est-à-dire 3 à 4 pour 1.000.

Quarante-huit heures après l'inoculation, la formule leucocytaire semblait sensiblement la même que la veille : une grande partie des Bacilles et granules englobés par les micronucléocytes, étaient résorbés ou en voie de résorption. Ce qui frappait la vue, en examinant à un faible grossissement, les frottis colorés, c'était l'abondance exceptionnelle des éléments en voie de mitose : de 3 à 4 pour 1.000 qu'elle était la veille, la proportion de ces éléments s'était élevée à 30 et 40 pour 1.000 ; elle avait donc décuplé.

Nous avons répété un très grand nombre de fois, en 1919, l'expérience faite en 1918 et dans la majorité des cas, quel que fût l'âge ou l'état de la chenille, pendant la mue ou entre deux mues consécutives, à la veille de la chrysalidation ou au cours des premiers âges, nous avons observé, après une période latente d'étendue variable, une augmentation très nette de la proportion des éléments en voie de division caryocinétique. D'autres espèces microbiennes que le *B. melolonthæ non liquefaciens* γ , sont capables de déclencher la réaction de caryocinétose. Nous ne relaterons pas toutes les expériences que nous avons faites dans cette voie : elles ont porté sur la plupart de nos microbes entomophytes et l'inoculation a été faite à plusieurs espèces de chenilles de Macrolépidoptères de sensibilité différente à l'infection microbienne (il y a des chenilles, celles de *Pieris brassicæ*, par exemple, qui sont sensibles à l'infection en général et succombent le plus souvent sans réagir visiblement ; d'autres, au contraire, présentent souvent des cas d'immunité, par exemple : celle de *Lymantria dispar*). La conclusion générale de nos premières expériences, peut être résumée ainsi : les chenilles dites résistantes, réagissent généralement à l'inoculation des microbes peu virulents, par une multiplication anormale des éléments du sang, et plus spécialement,

des macronucléocytes. La réaction ne se manifeste pas toujours après la même période latente : ainsi après l'inoculation du *B. melolonthæ non liquefaciens* γ dans la cavité générale des chenilles d'*E. chrysorrhæa*, la réaction commençait généralement au bout de 48 heures, mais elle pouvait être avancée de quelques heures ou même retardée. L'inoculation du même Bacille aux chenilles de *Mamestra brassicæ* L. déclenchait sensiblement plus tôt, la réaction de caryocinétose : il n'était pas rare de voir apparaître les premières figures de caryocinèse vingt heures après l'inoculation ; quelquefois même, la période latente était réduite à 15 heures. La durée de la réaction est aussi très variable, elle se poursuit généralement plusieurs jours (2 à 3 en moyenne). Son intensité varie avec les individus inoculés, mais dans de faibles limites. Le chauffage, la filtration sur porcelaine, n'altèrent pas sensiblement les propriétés de l'émulsion microbienne, au point de vue de son action sur les macronucléocytes. On peut donc — écrivions-nous dans une de nos notes préliminaires — considérer la caryocinétose comme la conséquence directe de l'action d'un produit microbien particulier, sur les macronucléocytes du sang ; la réaction apparaît, par suite, comme un phénomène indépendant de la phagocytose.

Le produit microbien qui détermine dans la cellule le déclenchement du processus caryocinétique, est caractérisé par sa grande thermostabilité : il n'est pas détruit par le chauffage à 80° ; l'ébullition même prolongée pendant quelques minutes, l'altère à peine ; le chauffage au-dessus de 100°, par contre, le détruit très rapidement.

Nous nous sommes posé, au début de nos études sur la caryocinétose, la question de savoir si ce phénomène réactionnel devait être considérée comme une réaction véritable d'immunité, c'est-à-dire comme une réaction concourant effectivement à l'accroissement de la résistance de l'Insecte à l'infection microbienne. A cette question, nous avons d'abord répondu par l'affirmative. « En effet — écrivions-nous dans notre première note sur la caryocinétose — nous n'avons jamais observé cette réaction chez les Insectes qui offrent peu de résistance à l'infection, par exemple : le Hanneton et sa larve ; les chenilles de *Vanessa urticæ*, *Eriogaster lanestris*, *Pieris brassicæ* et *Pieris rapæ*. Or la phagocytose est plus ou moins active dans le sang de toutes ces espèces ; elle est même très active pour certaines espèces microbiennes comme *Bacillus liparis*, et cependant, la mortalité est élevée parmi les chenilles inoculées. L'immunité est aussi incomplète chez les chenilles plus résistantes, celles de *Lymantria dispar* par exemple. Nous possédons, par contre, un Coccobacille de Hanneton isolé cette année, vis-à-vis duquel, un certain nombre de chenilles se montrent d'une immunité absolue, entre autres, celles de *Lymantria* ; ce Coccobacille n'est cependant pas phagocyté plus énergiquement par les micronucléocytes des chenilles, que *Bacillus liparis* ; or il provoque plus sûrement et plus intensément la caryocinétose que n'importe quelle autre espèce microbienne.

S'il n'y a pas là — disions-nous pour conclure — une preuve absolue du rôle actif de la caryocinétose dans l'immunité, du moins y a-t-il de fortes présomptions en faveur de cette hypothèse. »

Nous avons même admis un instant l'hypothèse, que les macronucléocytes, qui

participent seuls à la réaction, jouaient un rôle actif dans l'immunité, en sécrétant, par exemple, des anticorps empêchants, vis-à-vis du développement des microbes, ou favorisants, par rapport à leur englobement par les micronucléocytes.

Mais après ce que nous ont appris les expériences plus récentes sur le mécanisme de l'immunité humorale, il ne nous est plus permis de soutenir une telle opinion. Si la multiplication anormale des macronucléocytes, après l'inoculation de microbes peu pathogènes peut être considérée comme un phénomène biologique faisant partie effectivement du tableau biologique qui représente l'ensemble du processus immunitaire, il ne s'en suit pas que cette multiplication doive avoir pour conséquence un renforcement de l'état d'immunité. D'ailleurs, la réaction ne se produit pas seulement après l'inoculation de microbes peu pathogènes ; nous l'avons observée après l'inoculation de Coccobacilles très pathogènes comme *Bacillus melolonthæ liquefaciens* et *B. lymantricola adiposus*, dans la cavité générale de chenilles de *Mamestra brassicæ*. Il est juste de mentionner que la caryocinétose ne se manifeste que si les Bacilles inoculés proviennent de cultures longtemps entretenues par repiquages successifs sur milieux de cultures artificiels ; ils ont ainsi perdu leur virulence primitive mais sont néanmoins capables de tuer les chenilles à dose relativement faible.

Enfin, la caryocinétose peut être provoquée non seulement par les émulsions microbiennes, mais aussi par des substances albuminoïdes diverses, comme le blanc d'œuf, ou des liquides organiques, comme le sang de Vertébrés (Mammifères, Oiseaux, Batraciens) et même le sérum seul.

On peut rapprocher ces faits, de ceux de même ordre observés chez les Vertébrés. On sait par exemple, que les organes hématopoïétiques des Mammifères, la rate et les ganglions lymphatiques en particulier, fonctionnent anormalement lorsque l'organisme est en état d'infection. BEZANÇON et LABBÉ ont montré, d'autre part, que les maladies à mononucléose, c'est-à-dire celles où les organes producteurs de mononucléaires déversent dans le sang une quantité anormale de ces éléments, sont précisément celles qui laissent après elles une immunité durable (la Variole, la Fièvre typhoïde, par exemple). D'un autre côté, dans les maladies à polynucléaires, la mononucléose apparaît à la convalescence et lorsqu'il y a un essai d'immunisation, au moins pour un temps.

M. DE LAET s'est posé la question de savoir au niveau de quels organes l'influence des microbes introduits dans l'organisme des Vertébrés, agissait pour exciter la prolifération des éléments producteurs de leucocytes. La méthode employée pour résoudre cette question, est basée sur celle imaginée par CARREL (culture *in vitro* de tissus). Comparant deux cultures *in vitro* de rate de cobaye, l'un inoculé depuis vingt-quatre heures avec Bacilles typhiques, l'autre normal, DE LAET a constaté, vers le troisième ou quatrième jour, que la rate du premier cobaye était entourée d'une zone blanchâtre, alors que celle du cobaye neuf avait conservé son aspect primitif. Le maximum d'épaisseur de la zone blanche, était atteint 80 à 96 heures après la mise en culture. Cette zone était constituée uniquement par des leucocytes polynucléaires. Donc, « il est hors de doute — conclut DE LAET — qu'au cours d'une forte inoculation de Bacille d'EBERTH, la rate est le siège d'une réaction très intense

qui met en liberté un nombre considérable de leucocytes polynucléés ». Il résulte aussi d'une autre expérience de l'auteur, que « la toxine typhique ne détermine pas elle-même, par son seul contact avec le tissu splénique, cette formation de polynucléaires ». Il existerait donc, dans le sang des animaux en état d'infection, un facteur intermédiaire jouant ce rôle d'excitant et prenant naissance à la suite de l'inoculation de l'émulsion bacillaire. Cette hypothèse est conforme à celle de J.-P. GAY et EDITH CLAYPOLE, qui attribuent au sérum immunisant le rôle d'excitant sur les organes producteurs de leucocytes.

La production anormale de leucocytes ne résulte pas seulement de l'inoculation de microbes. Dès 1907, ACHARD et WEIL montraient que l'injection intra-veineuse de collargol au Lapin, déterminait une forte réaction des organes hématopoïétiques; en particulier de la moelle osseuse, de la rate et du thymus. Ainsi, dans la moelle osseuse, les auteurs ont noté, au début, une congestion de l'organe et une notable prolifération qui va en diminuant du troisième au dixième jour; dans la rate, aux troisième et cinquième jours, une hypertrophie et prolifération des corpuscules de MALPIGHI transformés en centres germinatifs; leurs cellules sont de grands mononucléaires clairs entourés d'une couronne de lymphocytes. Dans la pulpe légèrement congestionnée, on trouve par places, des polynucléaires neutrophiles et éosinophiles et l'on note un réveil des cellules du réticulum. Le thymus est le siège de modifications analogues à celles observées dans la rate.

DUSTIN, par des recherches originales sur l'influence des variations du métabolisme sur l'histophysiologie du thymus, a montré que cet organe réagissait essentiellement par ses petites cellules. « Le jeûne, la suppuration, la maturation des produits sexuels, l'allaitement, s'accompagnent d'une diminution, par pycnose, du nombre des petites cellules. La suralimentation, particulièrement, si elle est faite au moyen de substances riches en nucléine, produit la multiplication cinétique des cellules souches et l'augmentation de volume de l'organe. » Rapprochant ces constatations de celles plus anciennes faites par R. BLUMENTHAL dans la moelle osseuse, après injection de substances diverses, comme le vitellus d'œuf de Poule, DUSTIN se pose les questions suivantes, très importantes par les perspectives nouvelles qu'elles ouvrent sur le problème général de la physiologie des organes: « Quand, comment et pourquoi des mitoses se produisent-elles dans les divers tissus d'un Métazoaire arrivé à l'état adulte, et par quel mécanisme le nombre et la topographie de ces mitoses se trouvent-ils déterminés ? »

En expérimentant sur des Souris, DUSTIN est arrivé à montrer que l'injection intrapéritonéale de sérum humain déclenchait, vers le troisième ou quatrième jour, une « onde de cinèses » dans l'organisme de la Souris. Les cinèses ne sont pas localisées seulement au thymus ou à la moelle osseuse, mais semblent se produire « partout où se trouvent des cellules aptes à se multiplier : rate, plaques de PEYER, ganglions lymphatiques, épithélium intestinal, épididyme même ». Les cinèses disparaissent généralement du huitième au dixième jour. Le chauffage du sérum injecté (30 minutes à 56°) ne détruit pas ses propriétés excitatrices. Si une deuxième injection est faite treize jours après la première, le déclenchement de l'onde cinétique a lieu après une

période de latence de quatre jours. « Le sérum lui-même — se demande DUSTIN — renferme-t-il la substance ou tout au moins une partie indispensable du complexe provocateur de la mitose ? » L'auteur penche pour l'hypothèse suivante : la substance active est en réalité, le produit de digestion de l'albumine étrangère par les leucocytes.

Dans une note plus récente, DUSTIN, en collaboration avec M^{lle} CHAPEAUVILLE, a montré que l'injection intrapéritonéale de peptone, comme celle de sérum, déclenchait une onde de cinèse dans les mêmes organes cités plus haut. Ce fait montrerait que « des produits de désintégration d'albuminoïdes, peuvent provoquer l'onde de mitoses, mais également avec période de latence. Il ne semble donc pas — ajoutent les deux auteurs — que parmi les substances diverses contenues dans la peptone employée, il y en ait une capable de provoquer directement la mitose, sans l'intervention d'un mécanisme cytologique ou humoral réalisé par l'organisme injecté. » Les auteurs ont constaté aussi que l'accumulation des noyaux dans les organes dont les cellules se multiplient anormalement, est empêchée par la multiplication des pycnoses dans les mêmes organes et ils arrivent à cette conclusion que « la pycnose n'est pas un phénomène dégénératif accidentel, mais qu'elle doit être considérée comme une manifestation physiologique importante. »

Les seuls cas de pycnose que nous ayons observés chez les Insectes, ne peuvent être considérés comme des manifestations physiologiques ; ils ne se produisent jamais après la multiplication anormale des macronucléocytes, mais seulement après inoculation de certains microbes pathogènes.

Les conclusions des recherches de DUSTIN sont d'une grande importance ; elles font sortir la question de l'hyperactivité fonctionnelle des organes hématopoïétiques, du cadre étroit dans lequel on l'avait placée ; il ne s'agit plus, en effet, de savoir dans quelles conditions particulières réagissent ces organes au cours d'une infection, mais bien de déterminer les causes générales de production de mitoses dans les tissus de Métazoaires adultes, ainsi que les conditions dans lesquelles se manifestent ces réactions cellulaires ou tissulaires.

Si nous comparons les faits observés chez les Insectes, à ceux de même nature qu'on observe chez les Vertébrés, nous constatons les plus grandes analogies dans la marche du processus ; les seules différences observées sont les suivantes : raccourcissement de la période de latence et simplification du processus réactionnel (une seule catégorie de cellules réagit dans l'organisme des chenilles). Nous considérons donc la réaction de caryocinétose, non seulement comme une réaction d'immunité (*sensu lato*) mais comme un phénomène physiologique d'ordre très général, se rattachant à ceux mis en évidence par DUSTIN chez la Souris et par les auteurs cités plus haut chez l'Homme, le Cobaye ou le Lapin.

LES RÉACTIONS HUMORALES D'IMMUNITÉ

On admet généralement que l'immunité naturelle a pour cause principale, l'activité phagocytaire de certains éléments du sang. « Le sort de l'organisme infecté, dit BORDET dans son traité sur l'immunité, dépend essentiellement de l'efficacité de sa

défense phagocytaire ». Dans l'immunité acquise, par contre, on admet que le rôle de défense n'est pas uniquement d'ordre cellulaire, mais que les microbes peuvent être détruits en dehors des cellules, sous l'influence de principes formés dans le sang ou le liquide interstitiel, à la suite d'une première inoculation de microbes morts ou dépourvus de virulence, ou de produits microbiens. Ces réactions qui mettent en jeu des éléments figurés du sang, sont dites du type humoral. Les principes actifs du sang immunisé, que beaucoup considèrent comme étant d'origine leucocytaire, sont désignés sous le nom général d'anticorps. Il n'existe pas seulement des anticorps microbiens, mais aussi des substances antagonistes actives contre les globules du sang, les cellules, « Tout élément, dit BORDET, qui, introduit dans les tissus, provoque l'apparition d'un anticorps dans le sérum, est, par définition, un antigène ; toute substance spécifique du sérum élaborée par l'organisme en réponse à l'administration d'un antigène et capable de réagir avec celui-ci, est un anticorps. »

Il résulterait donc de cette définition que les anticorps du sang seraient des substances définies existant réellement dans le sang ; leur nombre serait aussi grand que celui des antigènes ; il serait donc infini. Malheureusement, il n'a jamais été possible de les isoler, de sorte que leur existence est encore hypothétique. Il n'est donc pas conforme à la réalité de parler d'antitoxine, d'agglutinine, de bactériolysine, de cytotoxine des sérums. BORDET lui-même s'oppose très justement à cette « conception de divers auteurs qui, loin de regarder les termes d'antitoxine, agglutinine, etc., comme des étiquettes simplement commodes, estiment qu'ils correspondent à une répartition des principes actifs en catégories naturelles et bien tranchées caractérisées chacune par la conformation moléculaire spéciale des anticorps qu'elle comprend. » Cependant l'opinion propre de BORDET, ne paraît pas très éloignée de cette conception quand il dit « qu'on peut avoir la certitude morale que les anticorps sont de nature protéique, mais on n'en a pas la preuve irréfutable. » Les théories actuelles sur le mécanisme des réactions humorales sont entièrement basées sur cette conception particulière des anticorps, et c'est ce qui fait leur faiblesse.

De toutes les fonctions des immunosérums étudiées chez les Vertébrés, nous n'avons reconnu chez les Insectes, que l'existence du pouvoir bactériolytique. GLASER, par contre, aurait observé des phénomènes d'agglutination dans le sang de *Melanoplus atlantis* inoculés avec le *Bacillus poncei* ; d'autre part, CANTACUZÈNE, chez les Crustacés, a observé des phénomènes d'agglutination et d'hémolyse, comparables à ceux que l'on observe si fréquemment dans le sang des Vertébrés.

Par quel processus s'exerce le pouvoir bactériolytique ? BORDET à la suite d'expériences mémorables, a montré que la bactériolyse des microbes dans les immunosérums, résultait de l'action combinée de deux substances. Si l'on chauffe à 55°, du sérum de Cobaye immunisé contre le Vibrion du choléra, ce sérum perd aussitôt le pouvoir bactériolytique qu'il possède vis-à-vis du Vibrion, mais il suffit d'ajouter au choléra-sérum chauffé, du sérum frais de Cobaye neuf pour lui faire acquérir à nouveau le pouvoir bactériolytique qu'il possédait avant le chauffage. De même, du choléra-sérum vieux de trois ou quatre semaines est incapable d'agir sur les Vibrions, mais l'addition du sérum frais le réactive.

Donc, le chauffage à 55° et le vieillissement ont pour effet de détruire une propriété essentielle de l'immunsérum. Cette propriété a pour cause, vraisemblablement, la présence d'une substance en solution dans le sang et caractérisée par sa grande instabilité ; elle existe normalement dans tous les sérums aussi bien ceux provenant d'animaux en état d'immunité, que ceux d'animaux neufs. BORDET considère cette substance hypothétique, comme identique à celle dont BUCHNER admet l'existence dans le sang et que cet auteur a décrit sous le nom d'alexine.

L'alexine est active, non seulement contre les microbes, mais contre une foule d'éléments organiques, en particulier, les globules sanguins et les cellules. Elle est incapable, à elle seule, de détruire les microbes : ceux-ci doivent avoir été sensibilisés au préalable par une autre substance qui n'existe que dans les immunsérums. Cette substance, à laquelle BORDET a donné le nom de sensibilisatrice, agirait à la manière des mordants en teinture. Elle se fixe énergiquement sur les microbes et n'est plus entraînée par les lavages : ainsi, des Bacilles mis en contact avec un sérum immunisé contre ces Bacilles et chauffé eu préalable à 55°, puis centrifugés, lavés à l'eau physiologique et centrifugés de nouveau, sont rapidement bactériolysés dès qu'ils sont mis en contact avec le sérum frais non chauffé.

La sensibilisatrice (aussi appelée fixateur, ambocepteur) est plus thermostable que l'alexine : elle n'est pas détruite par le chauffage à 60-65°. Elle n'apparaît dans les sérums ou les liquides interstitiels, qu'après une première inoculation de microbes ou de produits microbiens, de globules sanguins, de cellules ou matières albuminoïdes diverses. Elle ne se fixe que sur l'antigène qui lui a donné naissance.

Alexine et sensibilisatrice étant des substances hypothétiques, la théorie de BORDET ne peut être considérée comme une démonstration absolue du mécanisme de la bactériolyse ; cependant, aucun fait n'est venu infirmer cette théorie ; d'autre part, elle a permis des progrès remarquables dans la connaissance de la science de l'immunité comme aussi dans ses applications pratiques. On ne peut donc nier qu'elle ne traduise assez exactement un ensemble de faits d'observation courante chez les Vertébrés. Mais on peut se demander si la même théorie explique aussi bien les faits d'immunité humorale chez les animaux autres que les Vertébrés supérieurs. Nous nous sommes posé cette question en étudiant les réactions humérales chez les Insectes et nous avons eu la surprise de constater que la bactériolyse pouvait se produire suivant des processus très différents de celui dont nous avons exposé plus haut les grandes lignes.

ÉTUDE DE QUELQUES CAS PARTICULIERS D'IMMUNITÉ HUMORALE CHEZ LES INSECTES

I. — Cas du *B. MELOLONTHÆ* NON LIQUEFACIENS :

L'immunité de certaines chenilles de Macrolépidoptères pour le *B. melolonthæ non liquefaciens* ϵ , réalise le cas d'immunité humorale le plus typique que nous ayons observé jusqu'ici. Nous avons décrit en plusieurs notes, le processus général des réactions déclanchées dans le sang des chenilles d'*Agrotis segetum* Schiff, à la suite de

l'inoculation de ce Bacille dans la cavité générale. L'expérience suivante résume les différentes phases de ce processus :

Une chenille d'*Agrotis segetum* adulte est inoculée le 19 novembre 1919 à 10 h. 30, avec une émulsion de Bacilles provenant d'une culture jeune sur gélose ; pendant tout le temps de l'expérience, la chenille est maintenue à la température de 24°.

Un quart d'heure après l'inoculation, le sang de la chenille ne se distingue du sang normal, que par la présence de nombreux Bacilles présentant l'aspect de Bacilles de culture (minces et courts) et par la diminution très sensible du nombre des éléments cellulaires ; d'autre part, un certain nombre de ces éléments sont phagolysés. Nous avons vu que ces deux phénomènes hypoleucocytose et phagolyse, se produisaient toujours après l'inoculation d'émulsions bactériennes dans la cavité générale des Insectes ou même, après la simple injection d'eau physiologique.

Une heure après l'inoculation, les Bacilles libres du sang, toujours aussi nombreux, n'ont pas encore changé d'aspect et ne paraissent pas encore en voie de développement ; la proportion des éléments cellulaires du sang est sensiblement redevenue normale ; la réaction de phagocytose est à peu près nulle et la plus grande partie des micronucléocytes ne renferment aucun Bacille dans leur cytoplasme.

Après deux heures, le faciès des Bacilles est changé : ils sont en général plus gros et plus longs ; d'autre part, ils commencent à se multiplier activement (abondance des Diplobacilles). On ne constate toujours aucun progrès dans l'intensité de la réaction de phagocytose.

Après trois heures, l'aspect du sang de la chenille en expérience est le suivant : nombreux Bacilles libres présentant l'aspect de Coccobacilles typiques (coloration bipolaire par les couleurs d'aniline) ; un petit nombre de Bacilles sont restés minces et courts (probablement, Bacilles morts). Quelques Coccobacilles, après coloration au Giemsa, se présentent entourés d'une capsule assez épaisse, mais surtout colorée sur le pourtour. L'apparition de capsules, paraît être la première manifestation de l'activité humorale du sang ; nous reviendrons sur cette curieuse réaction. Phagocytose insignifiante.

Quatre heures après l'inoculation, la proportion des Bacilles normaux en suspension dans le sang, est sensiblement augmentée ; celle des Bacilles encapsulés est stationnaire ; on observe la présence d'un petit nombre d'éléments microbiens d'aspect granulaire : ces granules résultent de la transformation des Coccobacilles normaux. Nous ignorons suivant quel processus se fait cette transformation ; comme dans le phénomène bien connu de PFEIFFER, elle représente la première phase de la bactériolyse. La réaction de phagocytose commence à se manifester avec une certaine intensité.

Après cinq heures, la proportion des granules dans le sang, est très sensiblement augmentée ; mais le nombre des Coccobacilles normaux ou encapsulés, ne paraît pas diminué ; il y aurait ainsi équilibre entre l'activité vitale des Bacilles et l'action bactériolytique du sang. On observe, d'autre part, que la proportion des Bacilles encapsulés est toujours stationnaire. On pourrait croire que la présence de capsule

soit un obstacle à l'action destructive du sang ; on observe au contraire que beaucoup de Bacilles encapsués ont subi la transformation granulaire comme les Coccobacilles normaux. En même temps que le microbe change sa forme, la capsule se modifie aussi profondément ; elle semble s'étaler et tend à s'arrondir mais ses contours deviennent plus ou moins irréguliers (fig. 66), elle se colore moins intensément par le Giemsa et prend une teinte rose pâle.

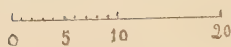
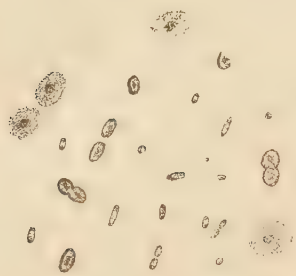


Fig. 66.

Les Coccobacilles en voie de transformation granulaire sont facilement reconnaissables sur les frottis colorés à la thionine ou aux autres couleurs d'aniline : ils perdent la propriété de se colorer plus intensément aux deux pôles et prennent une teinte uniforme ; on observe en même temps qu'ils se raccourcissent sensiblement jusqu'à réaliser la forme de granules parfaitement arrondis.

Six heures après l'inoculation, la transformation granulaire, ou *Granulose* (c'est le nom par lequel nous avons désigné cette première phase du processus bactériolytique) est en progrès marqué : la proportion des granules atteint 50 % environ du nombre total des éléments microbiens en suspension dans le sang. Un certain nombre de ces granules sont en voie de disparition (points à peine perceptibles ou minuscules granules). Le nombre des Coccobacilles normaux et encapsulés est notablement moins élevé qu'au moment de la précédente observation.

Outre les granules simples, on observe aussi sur les frottis colorés au Giemsa, la présence de taches teintées de rose, à contours mal définis et à l'intérieur desquels on distingue plus ou moins nettement, un minuscule point coloré : ce sont les restes des capsules et des granules qu'elles enveloppent.

La réaction de phagocytose est très nettement plus intense que pendant les premières heures qui suivent l'inoculation. Dans le cytoplasme des micronucléocytes, on observe à la fois : des Coccobacilles normaux, des Bacilles encapsulés et des granules (Pl. VI, 24). La proportion des deux premiers est sensiblement la même que dans le sang, ce qui semble prouver que la capsule n'est pas plus un obstacle à la pénétration intracellulaire qu'elle n'en était un à l'action bactéricide des humeurs. La proportion des granules intraprotoplasmiques est nettement plus élevée que dans le sang. Ces constatations montrent, au moins dans le cas qui nous occupe, que l'intensité de la réaction de phagocytose est surtout fonction de l'action bactéricide du sang. Nous verrons, en étudiant les autres cas d'immunité, que cette observation est susceptible de généralisation.

A partir de la septième heure, la réaction humorale s'accroît très rapidement ; le nombre des Bacilles libres et des granules diminue considérablement jusque sept heures et demie après l'inoculation ; à ce moment, il semble que la réaction subisse un temps d'arrêt.

Sept heures trois quarts après l'inoculation, la proportion des Bacilles est

nettement supérieure à celle des granules puis la réaction reprend de nouveau et la proportion se renverse complètement.

Après huit heures trois quarts, la réaction peut être considérée comme terminée. Dans les micronucléocytes, on observe à la fois des Bacilles normaux, des granules et des Bacilles encapsulés, mais ceux-ci en très petit nombre. La présence de Bacilles normaux dans les cellules, alors que toute trace de Bacille dans le sang est disparue, semble bien indiquer que le pouvoir bactéricide du sang n'a pas pour origine un ferment cellulaire élaboré par les micronucléocytes.

Dans la plupart des expériences d'infection que nous avons faites avec le *B. melolonthæ non liquefaciens* ϵ , le processus général des réactions d'immunité se ramène sensiblement au type que nous venons de décrire. Les principaux changements observés, ont trait à la durée de la réaction, qui varie suivant la quantité de Bacilles inoculés, suivant la température et, semble-t-il, suivant d'autres facteurs vitaux indéterminés qui changent avec chaque chenille et qui constituent, peut-on dire, la personnalité de chacune d'elles.

Il arrive parfois, lorsque la quantité de Bacilles inoculés est considérable, ou que ceux-ci sont pris dans une culture très jeune, ou encore lorsque la chenille est en état de moindre résistance, que l'infection triomphe des réactions de défense et se généralise rapidement pour aboutir à une septicémie mortelle. L'expérience suivante réalise un de ses cas exceptionnels ;

Une chenille d'*A. segetum* est inoculée le 19 décembre avec une émulsion provenant d'une culture sur gélose de treize jours, et maintenue tout le temps de l'expérience à l'étuve à 25°.

Après six heures et demie, on observe que les Bacilles libres sont assez nombreux dans le sang mais qu'un très petit nombre a subi la transformation granulaire. La proportion des Bacilles encapsulés est de 10 % environ.

Après dix-huit heures, les Bacilles libres sont très nombreux dans le sang ; la proportion des Bacilles encapsulés est plus faible, mais leur nombre est sensiblement le même que six heures et demie après l'inoculation. Les granules ne se rencontrent que dans les micronucléocytes et encore, en très petit nombre. La chenille succombe vingt-quatre heures après l'inoculation.

Il peut arriver que les réactions humérales se manifestent avec plus d'intensité que dans l'expérience précédente, l'infection ne progresse alors que très lentement : c'est ce qu'on observe dans l'expérience suivante :

Une chenille d'*A. segetum* est inoculée le 5 décembre avec une émulsion de Bacilles provenant d'une culture jeune ; elle est maintenue tout le temps de l'expérience à la température de 27°.

Après six heures, on observe de nombreux Bacilles libres dans le sang, présentant les caractères de microbes en voie de multiplication active, mais seulement une proportion insignifiante de granules. Une partie des Bacilles libres sont encapsulés.

Après sept heures, l'infection est en progrès mais la proportion des granules est aussi sensiblement augmentée. Dans la plupart des micronucléocytes, on observe

la présence de nombreux microbes normaux et granules, ceux-ci, toujours en proportion plus élevée que dans le sang.

L'aspect du sang varie peu par la suite. Les frottis de sang faits huit heures, huit heures et demie, dix heures après l'inoculation, ne présentent que des différences de détail.

Après dix-huit heures, on observe toujours de nombreux Bacilles libres mais les progrès de l'infection sont peu appréciables. La proportion des granules est plus élevée que la veille ; on n'observe pas comme dans le sang des chenilles où la réaction de bactériolyse est complète, la présence de granules minuscules.

Vingt-quatre heures après l'inoculation, l'infection est stationnaire ; nos observations s'arrêtent à ce moment, car une infection secondaire se déclare par la suite, qui masque rapidement la première.

On ne peut mettre en doute le caractère essentiellement humoral des réactions dont nous avons décrit le processus. A aucun moment, la phagocytose n'apparaît comme jouant un rôle décisif ; c'est au contraire, une réaction d'ordre très secondaire qui ne prend de valeur appréciable qu'au moment où les Bacilles commencent à subir l'influence bactéricide du sang, et encore est-il juste de faire observer que l'englobement des bacilles a surtout pour effet, de les soustraire à cette action bactéricide. Les microbes englobés sont peu à peu digérés, mais l'action digestive des ferments micronucléocytaires, est sans rapport avec l'action bactériolytique du sang. L'immunité des chenilles d'*A. segetum* contre *B. melolonthæ non liquefaciens* est une exception très nette à la théorie généralement admise, sur le rôle prépondérant de nouveaux foyers d'infection dans l'organisme.

Le rôle de protection joué par les phagocytes vis-à-vis certains microbes a été mis en évidence par ROUS et JONES. Ces auteurs ont montré que beaucoup de microbes pathogènes pour l'Homme, par exemple, les Bacilles de la Tuberculose, de la Lèpre, le Gonocoque, paraissent échapper à l'influence destructive du sang, grâce à leur vie intracellulaire. Le rôle de protection est intimement associé à la vie cellulaire ; lorsque les cellules sont perdu leur vitalité, les microbes englobés ne sont plus protégés. Pour ROUS et JONES, les phénomènes de protection expliqueraient l'impossibilité des agents thérapeutiques à atteindre certains microbes englobés, celui de la Lèpre, par exemple. Enfin le leucocyte peut jouer aussi le rôle de vecteur et devenir la cause directe de l'apparition de nouveaux foyers d'infection dans l'organisme.

Lorsqu'une chenille a résisté à une première inoculation de Bacilles, et qu'elle les a fait entièrement disparaître du sang par le processus que nous avons décrit, elle est capable de réagir immédiatement après une nouvelle inoculation : elle est en état d'immunité acquise. L'expérience suivante montre que le nouveau processus réactionnel ne diffère du précédent, que par la rapidité beaucoup plus grande de la transformation en granules et de la bactériolyse subséquente.

Une chenille d'*Agrotis pronubana* L. est inoculée le 3 décembre avec une émulsion de Bacilles provenant d'une culture jeune sur gélose ; elle est maintenue tout le temps de l'expérience à la température de 24° ; trente-huit heures après, elle est réinoculée avec une émulsion de même origine.

Examiné cinq minutes après l'inoculation, le sang présente l'aspect suivant : Bacilles libres très nombreux ayant le faciès des Bacilles de culture ; quelques-uns déjà transformés en granules. Réaction de caryocinétose très intense caractérisée par l'abondance des formes de début (bande équatoriale principalement).

Après dix minutes, la granulose a fait peu de progrès, mais les Bacilles ont changé d'aspect ; la plupart se présentent avec une capsule faiblement colorée, à bords plus ou moins irréguliers. Les granules encapsulés sont entourés d'une auréole rose. Quelques Bacilles sont entourés d'une capsule très marquée, fortement colorée et à contours réguliers.

Après quinze minutes, sensiblement même aspect général du sang.

Après trente minutes, la granulose est intense ; les capsules colorées sont généralement peu visibles ; la bactériolyse des granules est rapide et générale.

La réaction est complètement terminée une heure après la réinoculation. Dans beaucoup de cas, elle se termine bien avant ce moment.

La réinoculation des chenilles d'*A. segetum* en état d'immunité, donne lieu au même processus réactionnel que celui décrit chez les chenilles d'*A. pronubana*.

Une de ces chenilles est inoculée le 5 décembre avec une émulsion de Bacilles de culture jeune ; elle est réinoculée dix-neuf heures après avec une goutte de sang de chenille morte infectée. Tout le temps de l'expérience, la chenille est maintenue à la température de 24°.

Après dix minutes la proportion de microbes transformés en granules est relativement élevée (25 à 30 0/0). La plupart des Bacilles apparaissent entourés d'une auréole rose (coloration au Giemsa) à bords plus ou moins réguliers, ou d'une capsule intensément colorée, à bords très nets et de la forme du Bacille.

Après quinze minutes, la proportion des granules est fortement augmentée et s'élève à 90 0/0 environ ; les Bacilles non transformés sont peu nombreux.

Après vingt-cinq minutes, la plupart des Bacilles et granules sont disparus du sang. La réaction est terminée trente minutes environ après la réinoculation.

Dans la généralité des cas étudiés au cours de nos recherches, la durée totale de la réaction, après une première inoculation, est comprise entre trente et quarante-cinq minutes.

L'état d'immunité des chenilles n'est pas sensiblement modifié à la suite d'une ou plusieurs réinoculations consécutives ; l'introduction de nouveaux Bacilles dans la cavité générale des chenilles aussitôt après la disparition des derniers granules, donne lieu au même processus réactionnel que celui décrit après la première réinoculation.

Première Expérience. — Une chenille d'*A. segetum* est inoculée pour la première fois le 5 décembre avec Bacilles de culture jeune ; elle est réinoculée 20 heures après avec une émulsion de même origine, puis au bout d'une heure, avec une goutte de sang de chenille infectée. Examiné au moment même de la réinoculation, le sang présente l'aspect de sang de chenille en état d'infection et renferme de nombreux Bacilles libres ayant l'aspect coccobacillaire. Au bout d'une heure on ne rencontre plus qu'un très petit nombre de Bacilles libres et de granules. Deux heures après, la réaction est complètement terminée.

Deuxième Expérience. — Une chenille d'*A. pronubana* est inoculée une première fois le 6 décembre à 10 heures ; une deuxième fois, le 7 décembre à 15 heures ; une troisième fois, le même jour à 20 heures.

Après cinq minutes, on observe de nombreux Bacilles libres dans le sang, avec et sans capsule. Quelques-uns sont déjà transformés en granules.

Après dix minutes, le nombre des Bacilles libres est déjà très sensiblement diminué et la proportion des granules, fortement augmentée.

Après quinze minutes, le sang ne renferme plus qu'un petit nombre de Bacilles libres et de granules dont beaucoup sont encapsulés comme les Bacilles, ce qui les fait apparaître semblables à des masses plus ou moins régulièrement arrondies.

La réaction est presque terminée, vingt minutes après la réinoculation.

Troisième Expérience. — Une chenille d'*A. segetum* est inoculée six fois consécutivement en l'espace de cinq jours ; le 18 décembre, elle est réinoculée une septième fois avec une émulsion concentrée de Bacilles d'une culture de cinq jours.

Deux minutes après cette réinoculation, l'aspect du sang est le suivant : nombreux Bacilles libres presque tous dépourvus de capsules ; micronucléocytes d'aspect très particulier : ils sont plus volumineux que les micronucléocytes normaux (fig. 67 ; comparer *a* et *b*) ; leur cytoplasme coloré en rose pâle après coloration au Giemsa

(normalement, il est coloré en bleu pâle) renferme un grand nombre de granulations de toutes grosseurs (fig. 67 *b*) ; ces granulations représentent les restes des granules et des Bacilles phagocytés après les inoculations successives. La teinte rose du cytoplasme est déterminée vraisemblablement par ces éléments micro-

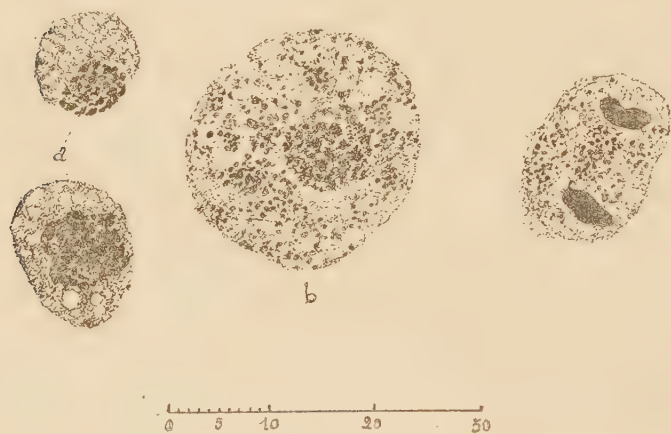


Fig. 67.

biens, qui deviennent plus ou moins éosinophiles après leur pénétration dans la cellule. La présence de nombreux débris microbiens dans le cytoplasme, n'est pas un obstacle à la division caryocinétique, ainsi qu'on peut le constater dans la figure ci-contre.

La transformation granulaire est importante après dix et quinze minutes, mais elle n'est pas générale ; de même, la bactériolyse n'est pas aussi rapide ni aussi complète qu'on l'observe dans le sang, après les premières réinoculations : quarante-cinq minutes après la dernière réinoculation, on observe encore un assez grand nombre de granules libres et même quelques Bacilles non altérés. L'observation n'a pas été poursuivie plus longtemps en raison de l'épuisement du sang de la chenille.

In-vitro, le sang des chenilles en état d'immunité, bactériolyse les Bacilles aussi rapidement et complètement qu'il les bactériolyse *in vivo*.

Étude du mécanisme de la réaction.

Le sang des chenilles immunisées contre le *B. melolonthæ non liquefaciens* ϵ , se comporte vis-à-vis de ces microbes, comme le sang ou le sérum des Vertébrés vis-à-vis de certains microbes pathogènes contre lesquels ils sont immunisés. On peut souligner par exemple l'analogie frappante entre la bactériolyse *in vitro* du *B. melolonthæ non liquefaciens* ϵ par le sang des chenilles d'*Agrotis* immunisées contre ce Bacille, et celle du Vibron cholérique, par le liquide péritonéal du Cobaye vacciné contre le Choléra, (phénomène de PFEIFFER.) Mais l'identité des deux processus bactériolytiques n'est qu'apparente.

Nous avons vu que la théorie de BORDET expliquait la bactériolyse, par la coopération de deux substances : l'une thermolabile, détruite à 55°, l'autre thermostable, résistant à un chauffage poussé à 60-65° ; la première disparaissant rapidement de l'immunsérum exposé à l'action de l'air ; l'autre, se conservant indéfiniment. Le chauffage du sang de chenille d'*Agrotis* immunisée contre le Bacille, a une toute autre action sur les propriétés bactériolytiques du sang. Si l'on chauffe ce sang une demi-heure, à 55° et qu'on lui ajoute ensuite une goutte d'une émulsion de culture microbienne, on constate que la réaction de bactériolyse se déclanche et se poursuit dans les mêmes conditions et suivant le même processus que dans le sang non chauffé. Le chauffage à 60-65° ne détruit pas le pouvoir bactériolytique ; si l'on chauffe à cette température, du sang de chenille immunisée, il se prend en masse par coagulation de l'albumine ; en brisant le coagulum et centrifugant, on recueille un peu de liquide clair dont le pouvoir bactériolytique n'est pas inférieur à celui du sang non chauffé.

Si l'on chauffe une demi-heure à 70-72°, la partie claire recueillie après centrifugation est encore capable de bactérioliser les microbes, mais on constate que le pouvoir bactériolytique n'est pas aussi intense que celui du sang non chauffé.

A partir de cette température, le sang perd rapidement ses propriétés et vers 75°, le pouvoir bactériolytique disparaît complètement. L'addition de sang frais non chauffé ne réactive pas l'immunsang chauffé.

Effet du vieillissement. — Une chenille d'*A. segetum* est inoculée le 1^{er} janvier à 11 heures 20 avec une émulsion de Bacilles provenant d'une culture jeune ; le 3 janvier, à 13 heures 20, nous prélevons une certaine quantité de sang que nous répar-tissons en trois tubes : deux ouverts et l'autre, scellé à la lampe ; tous trois sont placés à l'étuve à 24°.

Le 5 janvier, le sang de l'un des tubes ouverts est additionné de microbes de culture. Après quinze minutes de séjour à l'étuve, on observe déjà la formation de granules ; mais ensuite la réaction progresse lentement. Au bout de quatre heures, les Bacilles sont encore nombreux dans le sang et la proportion des granules est restée stationnaire. D'autre part, on peut observer que ces granules résistent à l'action lytique du sang et ne se transforment pas en granules plus petites.

Le sang des deux autres tubes est additionné, le 7 janvier à 13 heures 20, de culture microbienne de quatre jours et replacé à l'étuve à 24°. Dans aucun de ces

tubes, on n'observe le moindre signe d'altération des microbes. L'addition de sang frais normal ne réactive pas celui qui a ainsi perdu son pouvoir bactériolytique.

Lorsque l'immunsang est conservé à température plus basse, il garde plus longtemps son pouvoir bactériolytique, ainsi qu'on peut s'en rendre compte dans l'expérience suivante :

Nous prélevons, le 1^{er} janvier, une certaine quantité de sang dans la cavité générale d'une chenille d'*A. segetum* immunisée par inoculation de microbes vivants, deux jours avant ; le sang ainsi prélevé, est conservé en tube fermé par un simple coton, à la température de 12°. Le 10 janvier, soit neuf jours après le prélèvement, nous additionnons ce sang, de culture microbienne et plaçons le tube à l'étude à 24°. Nous observons la formation des premiers granules, une heure environ après l'addition de microbes ; la proportion des granules atteint un taux qui ne dépasse pas 5 à 10 0/0, puis reste stationnaire. La réaction est ainsi très limitée et l'on peut considérer que le sang a perdu la presque totalité de son pouvoir bactériolytique.

On n'observe pas de différence notable, au point de vue de la durée de conservation du pouvoir bactériolytique, entre le sang laissé au contact de l'air et celui qui en est isolé. En ce qui concerne l'immunsérum des Vertébrés, il paraît établi, au contraire, que la disparition du pouvoir bactériolytique par vieillissement, est due à l'action oxydante de l'oxygène de l'air. P. COURMONT et A. DUFOURT ont en effet montré que « si l'on agite mécaniquement un sérum pourvu d'alexine dans une étuve à 37° à l'air libre, l'alexine disparaît ; si on remplace l'air des flacons par de l'oxygène, la disparition est plus rapide ; si au contraire on fait le vide dans ces flacons ou si on remplace l'air par de l'hydrogène, l'agitation ne détruit plus l'alexine ».

L'action du vieillissement sur l'immunsang des chenilles semble donc bien se manifester de toute autre manière que sur l'immunsérum des Vertébrés ; la disparition du pouvoir bactériolytique ne résulte nullement d'une action oxydante de l'oxygène de l'air. Les chenilles immunisées perdent leur immunité aussi rapidement que l'immunsang perd son pouvoir bactériolytique en tube scellé.

En résumé, les deux critères sur lesquels s'appuie la théorie des « deux substances » de BORDET (action de la chaleur et action du vieillissement) pour expliquer la bactériolyse chez les Vertébrés, ne peuvent servir pour expliquer la même phénomène dans le sang des chenilles immunisées contre le *B. m. non liquefaciens* ϵ . Nous sommes donc en droit de conclure que ce cas d'immunité constitue une exception à la théorie de BORDET, et que la bactériolyse des microbes n'est pas due à la coopération de deux substances.

La première hypothèse qui semblerait devoir être adoptée, est celle de l'action d'une seule substance assimilable aux diastases et d'origine leucocytaire. Cette hypothèse est assez conforme aux idées actuelles ; nous-même avons admis un instant, en étudiant la réaction de caryocinétose, que les macronucléocytes, qui participent seuls à cette réaction, devaient jouer un rôle actif dans l'élaboration des anticorps. Aujourd'hui, nous ne pouvons soutenir une telle opinion, mais avant de formuler l'hypothèse définitive à laquelle nous nous sommes rallié, nous croyons nécessaire de donner les raisons qui nous font rejeter celle de l'action d'une substance

particulière ou diastase ; les expériences sur lesquelles nous baserons notre démonstration serviront d'ailleurs à étayer l'hypothèse définitive.

Première Expérience. — 1° Après avoir émulsionné dans une goutte de sang de chenille d'*Agrotis segetum*, une parcelle de culture microbienne de quatre jours, nous aspirons un peu de cette émulsion dans un tube fin ; avec le même tube, nous prélevons directement dans la cavité générale de la chenille une quantité de sang dix fois plus grande environ que celle aspirée tout d'abord. Nous avons ainsi en tube, un mélange simple de sang complet et de Bacilles. La partie effilée du tube, est fermée à la lampe ; la partie supérieure de la colonne de sang, est isolée de l'air par une mince couche d'huile de vaseline.

2° Un deuxième tube est rempli comme il vient d'être expliqué, mais la partie supérieure de la colonne sanguine n'est pas recouverte d'huile de vaseline.

3° Une troisième portion de sang de la même chenille est centrifugée pour séparer les éléments cellulaires du plasma ; la partie claire est ensuite aspirée en tube fin et additionnée d'une goutte d'émulsion faible de Bacilles de culture en eau physiologique.

Les trois tubes ainsi préparés, sont placés à l'étuve à 24°.

Après six heures, le sang du premier tube renferme de nombreux Bacilles libres de petite taille, mais pas de granules bien caractérisés.

Après dix heures, les changements sont peu sensibles : on observe cependant que beaucoup de microbes, après coloration appropriée, se présentent sous la forme de coccobacilles typiques (coloration bipolaire) ; on commence à reconnaître la présence de granules, mais en très petit nombre.

Après vingt-deux heures, le nombre des Bacilles est toujours aussi grand, mais la proportion des granules est très sensiblement augmentée.

Après vingt-neuf heures, le nombre des Bacilles paraît diminué et la proportion des granules, légèrement augmentée ; la diminution du nombre des Bacilles et l'augmentation du nombre des granules, sont encore plus accusées après trente-quatre heures de séjour à l'étuve.

La dernière observation est faite deux jours et demi après la mise à l'étuve ; l'aspect général du sang est peu modifié : on rencontre à la fois des Coccobacilles normaux, et des granules.

Le mélange du deuxième tube, bien isolé de l'air, se comporte comme le sang du premier.

Dans le mélange du troisième tube, on observe les modifications suivantes :

Après cinq heures, granulose à peine marquée ;

Après neuf heures, nombre des Bacilles normaux en légère progression, progression moins accusée du nombre des granules.

Après vingt et une heures, aspect du mélange non modifié ;

Après vingt-huit heures, nombreux Bacilles, mais peu de granules ;

Après deux jours et demi, le nombre des Bacilles a tendance à diminuer, celui des granules est plus élevé qu'au moment de la dernière observation.

La seule conclusion que l'on puisse tirer de cette expérience, est que le sang

complet de chenille d'*Agrotis* ou le plasma, constitue un milieu non favorable à la culture du *B. m. non liquefaciens* ε. Il semble aussi que ce milieu ait une action bactéricide sur les Bacilles, mais la transformation granulaire, qui en est le signe le plus évident, est loin d'être aussi marquée que dans le sang vivant.

Deuxième Expérience. — 1° Le 9 décembre, nous prélevons en tube fin, une certaine quantité de sang dans la cavité générale d'une chenille d'*Agrotis*; nous l'infectons avec une gouttelette d'une émulsion de culture jeune, dans l'eau physiologique; le tube est ensuite placé à l'étuve à 24°.

Un deuxième tube est préparé de la même manière, mais la chenille reçoit avant le prélèvement de sang, une injection d'eau physiologique;

3° Une certaine quantité de sang, toujours prélevée dans la cavité générale de la même chenille, est centrifugée; la partie claire est aspirée en tube fin, puis infectée.

Après sept heures, les Bacilles libres sont peu nombreux dans le premier tube, et paraissent végéter; ils sont petits et minces; on n'observe ni granules, ni Bacilles encapsulés. Dans les deux autres tubes, l'aspect du sang est sensiblement le même.

Après neuf heures, l'infection est en progrès sensible dans chacun des tubes; les Bacilles sont plus gros et plus allongés.

Après vingt et une heures, on observe dans le premier tube des indices très nets de réaction bactériolytique; présence de minuscules granules et diminution de nombre des Bacilles. La réaction s'accroît encore par la suite et trente heures après la mise à l'étuve, on n'observe plus dans le sang qu'un très petit nombre de Bacilles normaux et quelques granules.

Après vingt et une heures, dans le sang du deuxième tube on observe la présence de nombreux granules dont un certain nombre sont en voie de bactériolyse; les Bacilles normaux sont relativement rares; quelques-uns sont encapsulés. La réaction est très avancée au bout de trente heures.

La réaction se poursuit dans les mêmes conditions dans le sang centrifugé du troisième tube.

On est donc en droit de conclure, de cette expérience, à une action bactéricide du sang de chenille d'*A. segetum*, sur *B. m. non liquefaciens* ε. Le processus bactériolytique diffère de celui qu'on observe *in vivo*, par la durée plus grande de la réaction et par l'intensité plus faible de celle-ci.

Nous ne mentionnerons pas toutes les expériences que nous avons faites pour mettre en évidence l'existence *in vitro* d'une réaction humorale identique à celle qui se manifeste *in vivo*; elles sont du même type que les deux expériences décrites plus haut. Les seules différences constatées dans les résultats ont trait à l'étendue et à la durée de la réaction.

Puisque les microbes peuvent être transformés en granules, puis bactériolysés dans le sang dépourvu de cellules, comme dans le sang complet, il semble qu'on soit en droit de conclure que l'action bactéricide du sang d'*Agrotis* est indépendante de l'activité cellulaire. On peut rapprocher cette action bactéricide de l'action du sérum de Rat blanc sur la Bactéridie charbonneuse; mais alors qu'on a pu démontrer que l'immunité du Rat blanc était indépendante de l'action bactéricide du sérum (le

sang complet n'est pas bactéricide) celle des chenilles d'*Agrotis* pour le *B. m. non liquefaciens* : apparaît, au contraire, étroitement liée à l'action bactéricide du sang.

La réaction complète pourrait être assimilée à l'action d'une diastase préexistante dans le sang ; mais, dans cette hypothèse, on n'expliquerait pas que les microbes pussent se multiplier activement avant de subir cette action diastasique alors que cette action est presque instantanée dans le sang des chenilles en état d'immunité.

On pourrait supposer aussi que le ferment bactériologique se trouve normalement dans les éléments du sang, par exemple, dans les macronucléocytes ou les micronucléocytes et qu'il passe dans le sang au moment de la phagolyse de certains de ces éléments, phagolyse déterminée par l'action traumatique résultant de l'inoculation des microbes ou même du simple prélèvement. On sait que METCHNIKOFF a expliqué ainsi le mécanisme de l'action bactériode ou cytolytique de certains sérums (mise en liberté de micro-ou macrocytase par phagolyse des polynucléaires ou des mononucléaires). Mais alors, on devrait constater des différences très sensibles dans la marche et l'intensité de la réaction, suivant la manière dont l'inoculation est faite ou dont le sang est prélevé et conservé. Si l'on prélève par exemple le sang en pipette paraffinée, qu'on l'isole de l'air dès sa sortie par interposition d'une goutte de vaseline aspirée avant le prélèvement, il est de toute évidence que le sang ainsi recueilli renfermera moins d'éléments altérés que celui prélevé sans aucune précaution. Or, nous n'avons jamais constaté que la bactériolyse fût plus rapide et plus complète dans les tubes paraffinés que dans les tubes ordinaires.

L'existence de la réaction bactériolytique dans le sang centrifugé, ne constitue pas, une preuve absolue en faveur de la non-participation des cellules à la réaction ; en effet, la centrifugation lèse un plus ou moins grand nombre de cellules, ce qui détermine la mise en liberté, dans le plasma, des ferments qui pourraient exister dans ces cellules. Mais on n'observe pas que le culot de centrifugation, surtout composé de cellules, détruit plus rapidement et plus complètement les Bacilles que la partie claire dépourvue de cellules.

L'hypothèse de l'action d'une diastase cellulaire ne pouvant être retenue, il ne reste à envisager que l'action directe du plasma sur les microbes, ou mieux, celle du plasma modifié chimiquement et physico-chimiquement à la suite de l'inoculation, sur les Bacilles modifiés eux-mêmes par développement dans un milieu de nature spéciale. Cette action ne se manifeste pas toujours par la transformation des microbes en granules et leur bactériolyse subséquente. Les expériences suivantes montrent comment l'action bactéricide peut s'exercer *in vitro*.

Première Expérience. — Le 19 janvier à 17 heures, nous prélevons une certaine quantité de sang d'*Agrotis* et le centrifugeons aussitôt ; la partie claire est infestée largement avec une culture sur gélose de trois jours, puis, abandonnée à l'étuve à 24°.

Le 20 janvier à 17 heures 10, nous injectons, dans la cavité générale d'une chenille neuve, une goutte de plasma infecté. Au moment de l'inoculation, le sang infecté tient en suspension de nombreux Coccobacilles d'assez grande taille et d'appa-

rence normale on rencontre aussi quelques granules, mais leur proportion est insignifiante.

Dix minutes après l'inoculation, la granulose est déjà intense.

Après quarante minutes, la plupart des Bacilles et granules sont disparus et la réaction peut être considérée comme terminée au bout d'une heure.

Deuxième Expérience. — Le 22 janvier, à 9 heures 20, nous inoculons une nouvelle chenille neuve avec le sang complet prélevé et infecté le 19 janvier.

Dès les premières minutes qui suivent l'inoculation, de nombreux Bacilles se transforment en granules ; après dix minutes, leur nombre est très diminué ; après quarante minutes, les granules sont encore assez nombreux dans le sang, mais les Bacilles non transformés sont très rares.

La réaction n'est complètement terminée que trois heures environ après l'inoculation.

Troisième Expérience. — Le 24 janvier, à 11 heures 5, nous prélevons le sang d'une chenille d'*Agrotis segetum* et le centrifugeons aussitôt ; la partie claire est infectée largement avec une culture de deux jours ; le fond du tube de centrifugation, riche en cellules, estensemencé de même ; les deux tubes renfermant chacune des parties du sang de prélèvement, sont placés à l'étuve à 24°.

Le même jour, à 17 heures 40, nous inoculons une chenille neuve avec une goutte de plasma infecté riche en Bacilles.

Après quinze minutes, on rencontre surtout dans le sang, des granules dont un certain nombre sont en voie de bactériolyse ; après 30 minutes, le nombre des Bacilles et des granules est très diminué ; la réaction est à peu près terminée une heure après l'inoculation.

Une autre chenille d'*Agrotis* inoculée avec le fond du tube de centrifugation, réagit de la même manière que la précédente.

A 19 heures, la première chenille est réinoculée avec une émulsion de Bacilles d'une culture jeune.

Après dix minutes, la granulose est intense.

Après quarante-cinq minutes, le sang ne renferme plus qu'un très petit nombre de Bacilles et granules ; la réaction est à peu près terminée au bout d'une heure.

Quatrième Expérience. — Le 24 janvier, nous ensemençons avec une culture jeune, du sang d'*Agrotis* prélevé peu avant. Après 48 heures de séjour à l'étude à 24°, nous inoculons une goutte de ce sang riche en Bacilles, à une chenille neuve ayant séjourné quelques minutes à l'étuve.

Les granules apparaissent vers la dixième minute ; la granulose est rapidement générale et une heure après l'inoculation, la réaction peut être considérée comme terminée.

A ce moment, nous réinoculons la même chenille avec une émulsion concentrée de Bacilles provenant d'une culture d'un jour. Comme dans l'expérience précédente, la granulose s'établit rapidement et se généralise ; une heure après l'inoculation, la réaction est très avancée.

Nous avons fait de nombreuses expériences du même type que celles qui viennent d'être décrites et toujours nous avons enregistré les mêmes résultats. Nous pouvons donc conclure.

1° Que des Bacilles ayant végété quelque temps dans le sang de chenille d'*Agrotis*, à la température de 24°, n'ont plus les mêmes propriétés vitales que les Bacilles ordinaires de culture, bien que leur forme ne se soit pas sensiblement modifiée ; autrement dit, l'action bactéricide du sang peut se manifester par une modification chimique ou physico-chimique de la substance microbienne et non par un changement de forme des microbes ;

2° Que ces Bacilles ainsi modifiés se comportent, dans la cavité générale des chenilles neuves, comme des Bacilles de culture dans le sang des chenilles en état d'immunité acquise ;

3° Que l'injection de Bacilles cultivés dans le sang, à une chenille neuve, confère l'état d'immunité à cette même chenille ; on peut de la sorte, immuniser une chenille en un temps extrêmement court et par un procédé dont on ne connaît pas d'exemple chez les Vertébrés.

Nous nous sommes posé la question de savoir suivant quel mécanisme s'exerçait l'action bactéricide du sang *in vitro* (nous donnons à ce mot bactéricide, son sens le plus large). Il paraît logique d'admettre que cette action est comparable à celle exercée par différents agents physiques. (On sait, par exemple, que l'action prolongée de la chaleur ou celle d'antiseptiques divers, sur la Bactéridie du Charbon, détermine une modification durable de la virulence de ce parasite : on obtient ainsi des races capables de vacciner les animaux réceptifs, contre le Bacille virulent), mais nous ne savons rien du processus intime de cette action bactéricide et nous ignorons de même la nature exacte des modifications subies par les Bacilles dans le sang de chenille.

Suivant la quantité de Bacilles en contact avec un volume déterminé de sang de chenille neuve, l'action bactéricide est complète ou seulement partielle ; dans le premier cas, tous les Bacilles sont rapidement transformés en granules dans la cavité générale des chenilles inoculées, puis bactériolysés ; dans l'autre cas, les Bacilles ne sont pas tous altérés au même degré et la transformation en granules s'échelonne sur un temps plus ou moins long ; d'autre part, la bactériolyse ne suit pas immédiatement cette transformation, aussi la réaction peut-elle se prolonger pendant plusieurs heures.

L'hypothèse que nous admettons pour expliquer le mécanisme de l'action bactéricide du sang d'*Agrotis* sur le *B. melolonthæ non liquefaciens* est aussi valable pour les réactions qui ont pour siège le sang circulant. Dans deux notes préliminaires, nous avons dit comment nous concevions le processus général de ces réactions : granulose et bactériolyse nous apparaissent — disions-nous dans la première note — comme les dernière phases d'une série de réactions colloïdales entre les microbes ou leurs produits et certains constituants du sang ; dans la deuxième note, nous ajoutions que des réactions colloïdales complexes se produisaient entre les microbes et le sang, qui modifiaient plus ou moins profondément la nature des uns et des autres ; si l'on admet que le microbe est en état d'équilibre instable dans le nouveau milieu,

il suffira d'un changement insensible dans la composition du sang, de l'addition, par exemple, d'un électrolyte normalement présent dans le sang vivant, pour rompre l'état d'équilibre et déclencher les phases ultimes de la réaction humorale (granulose et bactériolyse). Le sang circulant est beaucoup plus actif que le sang de prélèvement, peut-être en raison de l'action oxydante de l'oxygène de l'air sur le ou les éléments actifs du sang.

Une preuve des changements survenus dans la composition physico-chimique du sang, à la suite de l'inoculation *in vivo* ou de l'infection *in vitro*, nous est donnée par l'examen ultramicroscopique ; dans le sang normal examiné par cette méthode, on n'observe qu'un très petit nombre de grains brillants ; au contraire, dans celui des chenilles inoculées depuis un certain temps, comme dans le sang infecté *in vitro* on constate la présence d'innombrables grains brillants disposés en général par deux ; ces grains sont invisibles à l'éclairage direct et ne peuvent être mis en évidence sur les frottis colorés. On les retrouve dans la partie claire du sang de chenille immunisée, après action de la chaleur, au moins lorsque la température de chauffage ne dépasse pas 72-75°.

Influence de la température sur le mécanisme de la réaction humorale.

Toutes les expériences que nous venons de décrire, ont été faites à une température voisine de 24° ; lorsque les chenilles inoculées sont maintenues à température plus élevée, le processus réactionnel est sensiblement le même qu'à 24° ; toutefois, lorsque la température dépasse 30°, il arrive assez souvent que l'infection triomphe des réactions de défense et détermine la mort des chenilles, par septicémie. Quand les chenilles sont placées à température voisine de 10° ou à température plus basse, on n'observe pas de processus réactionnel autre que la phagocytose.

Première Expérience. — Une chenille d'*A. segetum* est inoculée le 23 novembre à 11 heures 40, avec une culture de deux jours, et maintenue à la température moyenne de 9°.

Six heures après l'inoculation, le sang renferme un assez grand nombre de Bacilles libres, de taille plus petite que les Coccobacilles normaux. La phagocytose est assez intense et la digestion intracellulaire des Bacilles, relativement rapide.

Jusqu'à la neuvième heure, on ne constate pas de progrès sensible dans la marche de l'infection : la multiplication des Bacilles fortement ralentie en raison de l'insuffisance de la température, est équilibrée par l'englobement phagocytaire.

Après vingt heures, les Bacilles libres sont beaucoup plus nombreux qu'au moment de l'observation précédente ; ils sont aussi sensiblement plus gros ; quelques-uns même ont les dimensions ordinaires des Bacilles normaux qui se développent dans le sang à température plus élevée et déterminent la mort des chenilles, par infection généralisée. Les micronucléocytes sont bourrés de microbes en voie de digestion rapide ; on constate la présence de quelques Bacilles encapsulés dont un certain nombre sont englobés par les micronucléocytes.

Après vingt-cinq heures, le nombre des Bacilles libres est en augmentation

sensible et la proportion des Bacilles encapsulés est nettement plus élevée qu'au moment de l'observation précédente.

Après vingt-neuf heures et demie, l'infection progresse toujours, bien que la phagocytose soit très intense ; on n'observe aucun signe de réaction humorale, (fig. 68, a). A ce moment, c'est-à-dire le 24 novembre, à 17 heures 1/4, la chenille est placée à l'étuve à 24°.

Vingt minutes après, l'aspect du sang infecté est sensiblement le même qu'au moment de la mise à l'étuve ;

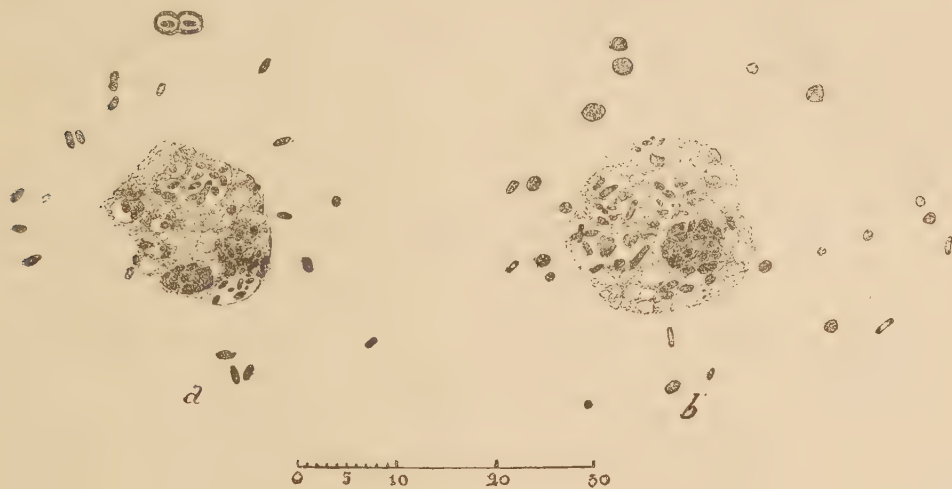


Fig. 68.

Après une heure, on observe la présence de quelques granules ;

Après deux heures, les Bacilles libres sont très nombreux dans le sang ; ils sont nettement plus gros que ceux du même sang, vingt minutes après l'inoculation ; le nombre des Bacilles encapsulés est en augmentation sensible ; celui des granules ne paraît pas avoir augmenté ;

Après trois heures, la granulose tend à se généraliser : plus de la moitié des Bacilles sont déjà transformés en granules ; ceux-ci, sur frottis colorés au Giemsa, apparaissent fortement colorés en bleu foncé ; quelques-uns sont en voie de grossissement et perdent peu à peu leur colorabilité.

Après trois heures trois quarts, on n'observe plus de Bacilles dans le sang, mais seulement des granules et surtout des masses de grosseur variable dont les plus grosses sont teintées de bleu très pâle après coloration au Giemsa et présentent des contours indécis (fig. 68, b) quelques-unes sont teintées de rose pâle dans la partie centrale et présentent une certaine analogie avec les masses microbiennes dont nous avons étudié la structure au cours du premier chapitre.

La réaction peut être considérée comme terminée quatre heures et demie après la mise à l'étuve.

Deuxième Expérience. — Le 8 mars, à 15 heures, nous inoculons une chenille d'*A. segetum* avec une culture de un mois ; jusqu'au 10 mars, la chenille est maintenue à la température moyenne de 5°. A 9 heures 3/4, nous la plaçons à l'étuve à 24°.

Après une heure et demie, les Bacilles libres sont nombreux dans le sang ; une certaine proportion d'entre eux sont encapsulés ; le plus grand nombre sont constitués par des Coccobacilles normaux dépourvus de capsule ; la phagocytose est moyenne.

Jusqu'à la troisième heure, on n'observe pas de changement dans la marche de l'infection ; à partir de ce moment, la granulose s'établit et se généralise rapidement. Après trois heures et demie, on constate déjà la présence de gros granules et même de masses de grosseur moyenne, (2 μ environ). La phagocytose devient plus intense.

Après quatre heures, la proportion des granules est peu augmentée ; mais on trouve davantage de grosses masses qu'au moment de l'observation précédente.

Après quatre heures et demie, la réaction est en progrès sensible ; le nombre des Bacilles non encore transformés est à peine le dixième de ce qu'il était au début de la réaction.

Après cinq heures, la proportion des masses ayant atteint leur grosseur maximum et des masses de grosseur moyenne, dépasse très nettement celle des granules ; la proportion des Bacilles non transformés n'a ni augmenté, ni diminué depuis la dernière observation.

Après six heures, le nombre des masses et des granules est très diminué ; celui des Bacilles est aussi en diminution légère.

Après six heures et demie, l'aspect du sang est le suivant : beaucoup de grosses masses en voie de disparition ; peu de granules ; quelques Bacilles libres normaux et encapsulés.

Après sept heures et demie, le sang ne renferme plus que de très rares Bacilles, mais encore un certain nombre de masses grosses et moyennes. A ce moment, nous soumettons à nouveau la chenille à la température de 5° et l'y maintenons jusqu'au lendemain matin.

A 8 heures, soit treize heures après le dernier examen, l'aspect du sang est sensiblement le même que la veille : l'abaissement de la température du sang a donc eu pour effet de suspendre la réaction.

Peu après la mise à l'étuve, la réaction continue et à 10 heures le sang ne renferme plus ni granules, ni masses.

Troisième Expérience. — Le 8 mars, à 15 heures, nous inoculons une chenille d'*Agrotis* avec une culture de un mois et la maintenons à la température de 5° pendant un jour ; le 9 mars, à 14 heures 1/4, nous la plaçons à l'étuve à 24°.

Au moment de la mise à l'étuve, le sang renferme de nombreux Bacilles libres de taille beaucoup plus petite que les Coccobacilles normaux. Ces Bacilles commencent de grossir entre vingt minutes et quarante minutes après le moment de la mise à l'étuve ; les capsules apparaissent vers la quarantième minute ; la proportion des Bacilles encapsulés atteint son maximum vers 15 heures 3/4 ; elle ne sera pas dépassée par la suite.

Jusqu'à 18 heures 1/2, la proportion des granules en suspension dans le sang est insignifiante ; la granulose ne commence effectivement que cinq heures et demie environ après la mise à l'étuve ; on observe en même temps, une recrudescence très

nette de la réaction de phagocytose. Le nombre des Bacilles normaux est encore élevé.

Après six heures et demie, la proportion des granules est sensiblement la même que précédemment mais beaucoup ont augmenté de volume ; quelques-uns même sont près d'atteindre leurs dimensions maxima. A ce moment la chenille est replacée à la température de 5°. Le lendemain à 8 heures, elle est remise à l'étuve ; le sang, examiné à ce moment, présente l'aspect suivant : nombre de Coccobacilles normaux toujours aussi grand que la veille ; proportion de granules diminuée mais celle des masses de moyenne grosseur et de grosseur maximum est en augmentation. Il semble donc que l'abaissement de température a eu pour effet de suspendre la granulose sans arrêter le grossissement des granules ; mais ce grossissement est beaucoup moins rapide qu'à la température de l'étuve.

Aussitôt après la mise à l'étuve, on observe que les Bacilles se transforment très rapidement en granules. Déjà après vingt minutes, la plupart d'entre eux ont subi cette transformation.

Après une heure, le sang ne renferme plus qu'un nombre relativement faible de grosses masses ; la réaction n'est complètement terminée que trois heures environ après la mise à l'étuve.

Quatrième Expérience. — Une chenille d'*Agrotis* est inoculée le 24 février, à 17 heures 1/2 avec une culture de dix-sept jours et soumise un jour environ, à la température extérieure oscillant entre +9 et +1°.

Le 25 février, à 16 heures 20, la chenille est placée à l'étuve. Le sang examiné à ce moment présente l'aspect suivant ; nombreux Bacilles libres de petite taille ; pas de granules ; faible proportion de Bacilles encapsulés ; phagocytose assez intense s'exerçant aussi bien sur les microbes encapsulés que sur les Bacilles normaux.

Après deux heures, les Bacilles normaux sont en augmentation ; leurs dimensions sont plus grandes qu'au moment de la mise à l'étuve ; les micronucléocytes renferment presque tous de nombreux microbes encapsulés ou non.

Après deux heures et demie, les premiers granules apparaissent ; la proportion des Bacilles encapsulés est toujours sensiblement la même ; cette observation, rapprochée de celles que nous avons faites dans les expériences précédentes, permet de conclure à la constance du nombre des capsules pour une chenille déterminée, ce qui semblerait indiquer que la capsule se forme aux dépens d'une substance particulière préformée dans le sang.

Quatre heures après la mise à l'étuve, le nombre des Bacilles est en augmentation sensible ; celui des granules est à peine augmenté ; on observe qu'une certaine proportion des micronucléocytes est en voie de destruction ; cette phagolyse a pour cause directe le trop grand nombre des microbes englobés.

A partir de ce moment, la granulose se généralise rapidement ; à 21 heures, la proportion des granules est de 30 % environ. A ce moment, nous soumettons de nouveau la chenille à l'action du froid (température de 5° environ).

A 8 heures, le lendemain, la chenille est placée à l'étuve. Le sang examiné à ce moment, présente l'aspect suivant : proportion des granules plus élevée que la veille (comprise entre 40 et 50 %) ; cette particularité s'explique par le fait que la

chenille a été sortie de l'étuve au moment où s'établissait la granulose ; la réaction a donc pu continuer quelque temps après cette sortie ; beaucoup de masses de moyenne grosseur ; phagocytose intense.

La granulose reprend très activement, peu après la mise à l'étuve déjà après une heure, on compte 90 0/0 de granules ; le nombre des grosses masses est relativement faible.

Après une heure un quart, proportion de granules non augmentée ; dans l'ensemble, grossissement marqué des granules ; proportion assez forte de grosses masses dont quelques-unes présentent une différenciation très nette dans leur partie centrale (après coloration au Giemsa).

Après une heure et demie, la proportion des Bacilles non transformés est de 10 0/0 environ de l'ensemble des éléments microbiens (granules, masses et Bacilles) la proportion des granules est très sensiblement inférieure à ce qu'elle était au moment de la dernière observation, celle des grosses masses en voie de disparition est relativement importante. Dans les micronucléocytes, on constate la présence de nombreux Coccobacilles normaux.

Après deux heures, le sang renferme principalement des granules de petite taille et après deux heures et demie, surtout des masses moyennes et grosses dont beaucoup sont en voie de disparition.

La réaction continue ensuite très lentement ; après six heures, on trouve encore quelques rares Bacilles non transformés et des granules et masses, la réaction peut être considérée comme terminée, sept heures après la mise à l'étuve. Cependant, en examinant le sang à vingt heures, c'est-à-dire, douze heures après la mise à l'étuve nous constatons encore la présence de quelques Bacilles et masses : ces éléments proviennent vraisemblablement de la destruction de micronucléocytes : beaucoup de ces cellules apparaissent en effet, bourrées de Bacilles non transformés, de granules et même de quelques grosses masses ; on retrouve en outre dans le sang, les débris de micronucléocytes détruits par ces éléments englobés en trop grande quantité.

En résumé, l'influence de la température sur la marche de la réaction d'immunité humorale, se manifeste par une modification complète du processus bactériolytique. La température de 12° paraît être la limite extrême en-dessous de laquelle la réaction humorale ne peut se déclencher. Si la chenille est maintenue à température plus basse, les microbes peuvent encore se multiplier, bien que faiblement, mais aucun ne se transforme en granule. Est-ce à dire que le sang ne réagit pas sur ces microbes ? Nous avons vu précédemment que des Bacilles en contact prolongé avec le sang, *in vitro*, devenaient plus aptes à subir l'action bactériolytique du sang circulant ; de même, dans le cas du contact des Bacilles avec le sang circulant, à température basse, il y a vraisemblablement action bactéricide incomplète en même temps que modification plus ou moins profonde du milieu sanguin ; ces altérations du microbe et du sang sont évidemment différentes de celles qui se produisent à température d'étuve dans le sang *in vitro*, puisque les granules, au lieu d'être rapidement bactériolysés, grossissent et se transforment en masses plus ou moins volumineuses. On peut juger, d'après ces quelques observations, de l'extrême complexité des réactions susceptibles

de se produire dans le sang des chenilles, après inoculation de Bacilles de culture ou d'autre origine.

Ce qui paraît le plus curieux dans l'action de la température, c'est le grossissement exagéré des granules aussitôt après leur formation. Tout se passe comme si la cellule bactérienne avait perdu son équilibre et qu'un échange actif de substances entre ces cellules et le milieu sanguin, eût pour effet, d'accroître démesurément leurs dimensions et d'identifier peu à peu leur substance, avec celle du milieu environnant ; la diminution progressive de la colorabilité des masses (après action des colorants ordinaires) au fur et à mesure de leur grossissement, serait une preuve en faveur de cette hypothèse. Les granules en voie de grossissement semblent conserver pendant quelque temps leur vitalité : en effet, si l'on ensemence sur plaque de gélose, du sang de chenille, une heure environ après la transformation des Bacilles en granules, on constate que de nombreuses colonies se développent tout le long de la strie, comme s'il s'agissait de sang fortement contaminé par des microbes normaux.

Si l'on admet que les transformations humorales des Bacilles ont pour cause un anticorps ou une diastase de nature particulière, on explique difficilement les modifications apportées dans le mécanisme des réactions, par l'abaissement préalable de la température du corps de la chenille. Si l'on admet au contraire l'hypothèse que nous avons formulée précédemment, ces modifications s'expliquent plus aisément : en effet, l'équilibre colloïdal, dans les liquides organiques, varie avec la température ; témoin l'expérience suivante : l'adjonction d'eau ordinaire ou d'eau distillée au sang de chenille d'*Agrotis segetum* maintenue quelque temps à l'étuve à 24°, détermine l'agglutination immédiate des éléments cellulaires, ce qui se traduit macroscopiquement par un trouble du liquide ; l'addition d'eau physiologique, c'est-à-dire de liquide isotonique, ne détermine aucun trouble. Si, au lieu d'opérer sur du sang provenant de chenille ayant séjourné à l'étuve, on emploie le sang d'une chenille conservée à la température ordinaire (10° environ) on n'observe pas d'agglutination des éléments cellulaires après addition d'eau ordinaire. On ne peut expliquer que par un changement de l'équilibre colloïdal, les variations de propriétés du sang, avec la température. En relatant pour la première fois ce fait d'expérience (Note préliminaire sur l'influence de la température), nous avons faussement interprété l'apparition de trouble, dans le sang des chenilles immunisées conservées à l'étuve, comme une flocculation.

Le changement d'équilibre colloïdal avec la température, a pour conséquence directe une modification correspondante de la substance microbienne ; les deux complexes colloïdaux en présence, sang et microbe, sont en état d'équilibre instable ; leur composition physico-chimique varie constamment, suivant la température, d'où, modification plus ou moins profonde du processus réactionnel.

II. — Cas du B. MELOLONTHE NON LIQUEFACIENS α .

Biologiquement, ce Bacille appartient à une espèce assez voisine du Bacille ϵ ; mais alors que cette dernière espèce est peu pathogène pour les Insectes en général, la première est capable d'infecter à dose très faible, un grand nombre d'Insectes. Ainsi

les chenilles d'*Agrotis segetum*, qui résistent à l'inoculation de doses considérables de Bacilles ϵ , ne résistent pas à celle de doses faibles de Bacilles α . Cependant, si les microbes inoculés proviennent de vieilles cultures, on observe généralement leur disparition totale du sang par phagocytose ; dans ce cas, l'immunité ne peut être attribuée à l'action bactéricide du sang, car on n'observe jamais la formation de granules. Lorsqu'une chenille d'*Agrotis* résiste à l'inoculation d'une vieille culture, elle n'acquiert pas l'état d'immunité : elle succombe toujours à une nouvelle inoculation de Bacilles provenant d'une culture jeune. L'infection se déclare sans qu'il se forme, à aucun moment, de granules extracellulaires ; d'autre part, on ne constate pas que les micronucléocytes des chenilles ayant résisté à une première inoculation, englobent mieux les Bacilles que ceux de chenilles neuves.

Les chenilles d'*Agrotis pronubana*, espèce voisine d'*A. segetum*, se comportent très différemment de ces dernières, vis-à-vis du *B. m. non liquefaciens* α .

Première Expérience. — Deux chenilles, l'une d'*Agrotis segetum*, l'autre d'*A. pronubana*, sont inoculées le 26 décembre à 20 heures, avec la même émulsion de Bacilles provenant d'une culture sur gélose de trois mois ; toutes deux sont abandonnées vingt-quatre heures à l'étuve à 24°. Le lendemain, à 13 heures 1/2, les deux chenilles, dont le sang ne renferme plus de Bacilles libres, sont réinoculées avec une culture de 7 jours.

A. segetum. — Après cinq minutes, le sang renferme de nombreux Bacilles libres ayant l'aspect des Bacilles de culture. A l'intérieur des micronucléocytes, on observe de nombreux Bacilles minces et courts non en voie de digestion : ce sont les microbes inoculés la veille, qui n'ont pu se développer dans le sang par manque de vitalité et ont été englobés par les micronucléocytes. L'absence complète de tout granule intracellulaire est une preuve de l'absence de toute réaction humorale dans le sang de l'*A. segetum*.

Au cours des examens suivants, après dix, quinze, trente, quarante minutes, une, deux, trois, cinq et sept heures, on constate que l'infection progresse régulièrement et avec rapidité. Aucun des Bacilles en suspension dans le sang ou intracellulaire, ne se transforme en granule. D'autre part, on n'observe pas que la réaction de phagocytose soit plus intense qu'après la première inoculation ; cette constatation rapprochée de la précédente, constitue une preuve nouvelle en faveur de la dépendance étroite des différentes espèces de réactions, humores et cellulaires.

Moins de vingt-quatre heures après la réinoculation, la chenille d'*A. segetum* succombe à l'infection sans que, à aucun moment, on n'observe la moindre trace de réaction humorale.

A. pronubana. — Examiné avant la réinoculation, le sang de la chenille présente un aspect un peu différent de celui de la chenille d'*A. segetum* : on n'observe pas, dans les micronucléocytes, de Bacilles intacts, mais seulement, de petits grains éosinophiles qui représentent les restes de Bacilles ou granules incorporés à la suite de la première inoculation.

Vingt minutes après la réinoculation, la proportion des Bacilles transformés

en granules, est de 50 0/0 environ ; le nombre des Bacilles et granules est très grand dans le sang ; quelques-uns des Bacilles sont très allongés.

Après trente minutes, la plus grande partie des microbes sont transformés en granules ; un grand nombre de ces granules sont de très petite taille (phase de bactériolyse).

Après quarante-cinq minutes, les Bacilles libres non transformés sont rares dans le sang, mais les granules sont encore nombreux ;

Même remarque après une heure ; la proportion des granules minuscules est plus faible qu'au moment de la deuxième observation ; c'est là un indice que la bactériolyse proprement dite se ralentit.

Après deux et trois heures, les granules sont toujours aussi nombreux dans le sang ; quelques-uns même ont grossi sensiblement. La phagocytose est moins intense que dans le sang de la chenille d'*A. segetum* ;

Après six heures, la réaction est en progrès ; après vingt heures, on n'observe, dans le sang, ni Bacilles ni granules.

Deuxième Expérience. — Le 31 décembre, nous inoculons une chenille d'*A. pronubana* avec une culture de trois mois et l'abandonnons trois jours à l'étuve à 24°. Le 2 janvier à 10 heures 25, nous prélevons une partie du sang de cette chenille et l'infectons avec une culture de trois jours ; au même moment, la chenille est inoculée avec la même culture. La marche des réactions est étudiée comparativement *in vivo* et *in vitro*.

In vivo, la granulose commence déjà dix minutes après la réinoculation ; à ce moment, la proportion des granules est environ de 20 0/0, les Bacilles non transformés sont du type coccobacillaire.

Après vingt-cinq minutes, la réaction est en progrès marqué ; la proportion des granules s'élève à 70 0/0 environ ; cependant, le nombre total des éléments microbiens transformés ou non, ne paraît pas sensiblement diminué.

Après trente-cinq minutes, les proportions respectives de Coccobacilles et granules ont peu varié ; quelques granules sont plus gros que la majorité des autres ; ils proviennent vraisemblablement de la transformation des Bacilles longs ; phagocytose d'intensité moyenne.

Après quarante-cinq minutes, la plus grande partie des Bacilles sont transformés en granules.

Après une heure et demie, on n'observe plus que de rares Coccobacilles libres dans le sang mais un nombre relativement élevé de granules.

Après deux heures, le nombre des granules est très fortement diminué. En résumé, la réaction, est du même type que celle décrite dans l'expérience précédente : elle est caractérisée avant tout, par la lenteur du processus bactériolytique.

In vitro, la granulose ne s'établit guère avant une heure ; après une heure et demie, elle atteint le plus grand nombre des Bacilles, mais la réaction ne se poursuit que très lentement et les Bacilles ne disparaissent pas complètement du sang.

Troisième Expérience. — Après avoir inoculé une chenille d'*A. pronubana*, une

première fois le 19 décembre avec une culture de trois mois, une deuxième fois le 21, avec une culture de vingt-quatre heures, nous l'inoculons une troisième fois, le 22 avec la même culture jeune.

Pendant les premières minutes, l'aspect du sang est le suivant : nombreux Bacilles libres de type coccobacillaire normal ; dans les micronucléocytes, amas de Bacilles et granules non encore digérés, provenant des inoculations précédentes.

Les granules deviennent abondants, quinze minutes environ après l'inoculation ; après vingt-cinq minutes, leur proportion n'est pas inférieure à 50 0/0. Contrairement à ce qu'on observe dans les expériences précédentes, la bactériolyse est intense et la diminution du nombre des Bacilles et granules libres, très accentuée.

Après quarante minutes, la proportion des granules dépasse 75 0/0.

Après cinquante minutes, on trouve moins de un Bacille non transformé par champ microscopique alors qu'au début de la réaction, le nombre de ceux-ci atteignait souvent plus de cinquante. La réaction de phagocytose est faible.

Après une heure, la réaction semble s'arrêter et l'on retrouve encore quelques Bacilles non transformés deux heures et demie et même trois heures et demie après la réinoculation, mais ceux-ci ne paraissent pas se développer.

Quatrième Expérience. — Une chenille d'*A. pronubana* est inoculée : une première fois, le 14 janvier à 15 heures avec une culture de trois mois, une deuxième fois, vingt-quatre après, avec une culture de un mois.

Cinq minutes après cette inoculation, l'aspect du sang est le suivant : nombreux Bacilles libres de petite taille ; dans les micronucléocytes, proportion faible de Bacilles et granules provenant de la première inoculation.

Les premiers granules apparaissent vers la dixième minute ; jusqu'à la trentième minute, la granulose est peu intense, mais ensuite, elle se généralise rapidement et après quarante-cinq minutes, plus de la moitié des Bacilles sont transformés en granules. La réaction de phagocytose est plus intense que dans les expériences précédentes : elle s'exerce principalement sur les granules.

Après une heure, la plupart des Bacilles ont subi la transformation granulaire mais ceux-ci ne semblent pas diminuer de grosseur.

Après une heure un quart, le sang présente le même aspect qu'au moment de l'observation précédente ; la réaction humorale paraît stationnaire ; par contre, la réaction de phagocytose continue, mais les micronucléocytes englobent presque uniquement des granules.

Après six heures et demie, le nombre des Bacilles normaux libres, est sensiblement diminué, mais celui des granules est toujours aussi grand ; quelques-uns sont de grosseur supérieure à la moyenne. La phagocytose, bien que très active, est impuissante à faire disparaître ou même à diminuer sensiblement la quantité de Bacilles et granules en suspension dans le sang.

A la longue, cependant, ceux-ci disparaissent complètement et la chenille est prête à réagir de nouveau.

Nous pouvons tirer, des diverses expériences qui viennent d'être décrites, les conclusions suivantes :

1° Le *B. melolonthæ non liquefaciens* α est beaucoup plus pathogène pour les chenilles d'*A. pronubana* que le Bacille ϵ , puisque l'inoculation de microbes provenant d'une jeune culture, détermine la mort des chenilles, par septicémie ;

2° L'immunité acquise à la suite de l'inoculation de Bacilles provenant d'une vieille culture est de nature essentiellement humorale ; si, en effet, on met obstacle aux réactions humérales, en maintenant les chenilles inoculées à température inférieure à $+12^{\circ}$, celles-ci ne s'immunisent pas et succombent même le plus souvent à l'infection, bien que les micronucléocytes englobent plus ou moins activement les microbes ;

3° La vaccination des chenilles d'*Agrotis* par inoculation de microbes de vieille culture, rappelle beaucoup celle des Vertébrés supérieurs, mais l'immunité est obtenue beaucoup plus rapidement ;

4° Le sang des chenilles en état d'immunité acquise est moins bactériolytique pour le Bacille α que ne l'était pour le Bacille ϵ , le sang des mêmes chenilles, immunisées contre ce Bacille.

Etude du mécanisme des réactions humérales.

On peut se demander si le mécanisme des réactions qui ont pour siège le sang des chenilles d'*A. pronubana* immunisées contre le Bacille, est bien le même que celui des réactions similaires étudiées précédemment ou si, au contraire, il est conforme à l'hypothèse de BORDET. Dans le but de résoudre cette importante question, nous avons répété, avec l'immunsang des chenilles d'*A. pronubana*, les mêmes expériences que nous avons faites avec le sang des chenilles d'*A. segetum* immunisées contre le Bacille ϵ .

ACTION DE LA CHALEUR.

Première Expérience. — Le 3 janvier à 19 heures, nous inoculons une chenille avec une culture de trois mois et l'abandonnons trois jours à l'étuve à 24° . Le 6 janvier à 9 heures, nous prélevons une partie du sang et le chauffons 20 minutes à $65-66^{\circ}$. Après avoir brisé le coagulum formé à la suite du chauffage et centrifugé pendant plusieurs minutes, nous séparons la partie claire surnageante (elle ne représente qu'une très petite portion du volume de sang chauffé) et l'infectons avec une culture, de deux jours.

Après une demi-heure de contact avec le sang à l'étuve, les microbes commencent à se transformer en granules. Après trois quarts d'heure, la proportion des granules s'élève à 40-50 0/0 ; la réaction progresse ensuite lentement et après trois heures, on observe encore la présence de nombreux microbes et granules.

L'action bactériolytique du sang chauffé à $65-66^{\circ}$, est sensiblement la même que celle de l'immunsang non chauffé.

Deuxième Expérience. — Une autre portion du sang frais de la même chenille est chauffée vingt minutes à $72-74^{\circ}$; la partie claire recueillie après centrifugation, est infectée à 17 heures 1/2 avec une émulsion de Bacilles d'une culture de trois jours.

Les premiers granules n'apparaissent guère avant une heure et demie de séjour à l'étuve ; la réaction se poursuit ensuite lentement ; après douze heures,

la proportion de granules ne dépasse pas 50 % ; beaucoup de ceux-ci sont mal colorés et ne présentent pas de contours bien précis ; ils semblent ainsi disparaître par un processus qui rappelle celui de la disparition dans le sang, des masses arrondies issues des granules dans le cas du Bacille ϵ .

Ainsi le chauffage à 72-74° ne détruit pas complètement le pouvoir bactériolytique, mais l'atténue sensiblement ; ce pouvoir ne disparaît complètement que par chauffage vers 76-78°, c'est-à-dire à une température un peu supérieure à celle qui détruit le pouvoir bactériolytique du sang de chenilles immunisées contre le Bacille ϵ .

Le sang qui a perdu son pouvoir bactériolytique ne peut être réactivé par le sang normal non chauffé.

L'action du vieillissement produit les mêmes effets que nous avons mis en évidence dans l'étude du cas précédent d'immunité humorale. On peut donc conclure que l'immunité des chenilles d'*A. pronubana* contre le *B. melolonthæ non liquefaciens* α constitue une deuxième exception à la théorie des « deux substances » de BORDET.

ACTION BACTÉRICIDE DU SANG DE CHENILLE SUR LES BACILLES DE CULTURE.

L'expérience suivante montre que l'action bactéricide exercée *in vitro* par le sang des chenilles d'*A. pronubana*, sur les Bacilles de culture, est identique à celle exercée par le sang d'*A. segetum* sur le Bacille ϵ : le 24 janvier, à 13 heures 1/2, nous prélevons le sang d'une chenille neuve, l'ensemencions, en tube ouvert, avec une culture du 3 janvier, et l'abandonnons un jour à l'étuve à 24°. Le 25 janvier, nous inoculons une goutte de ce sang infecté à une chenille neuve. Les Bacilles inoculés sont du type coccobacillaire normal ; ils ont pu se multiplier dans le sang mais la culture est pauvre en comparaison de celle qui se développe en milieu artificiel. Morphologiquement, les microbes ne présentent aucune trace d'altération ; aucun d'eux ne s'est transformé en granule.

Vingt minutes et même trois quarts d'heure après l'inoculation, on n'aperçoit pas de granules dans le sang de la chenille. Mais après une heure, ceux-ci sont déjà en nombre important (proportion de 25 à 30 %) ; la réaction de phagocytose est presque nulle.

La réaction progresse ensuite comme dans le sang des chenilles en état d'immunité. Après une heure cinquante, la proportion des granules est de 75 à 80 % environ, quelques-uns d'entre eux sont à peine visibles, ce qui est un indice de bactériolyse.

Après trois heures vingt, la réaction n'est pas encore terminée, mais le nombre des Bacilles et granules est très nettement inférieur à ce qu'il était au moment de la dernière observation.

En somme, la réaction qui se manifeste dans l'organisme des chenilles inoculées avec des Bacilles α ayant été en contact prolongé avec le sang de ces mêmes chenilles, est du même type que celle qui se manifeste dans l'organisme des chenilles en état d'immunité. Les Bacilles subissent donc dans le sang, des altérations d'une nature particulière, qui les rendent plus aptes à se transformer en granules dans le sang circulant.

La même hypothèse que nous avons formulée pour expliquer le mécanisme de la bactériolyse du Bacille ϵ , est valable aussi pour le cas de Bacille α . L'examen ultramicroscopique ne permet pas de mettre en évidence le changement survenu dans la composition physico-chimique du sang, après la première inoculation : l'aspect du sang de chenille immunisée est en effet le même que celui du sang normal.

III. — Cas du *B. PIERIS* NON LIQUEFACIENS α .

L'inoculation du *B. pieris non liquefaciens* α dans la cavité générale des chenilles de *Lymantria dispar*, donne lieu à des réactions humérales d'un type très différent de celles que nous venons d'étudier. Les différentes phases du processus réactionnel sont mises en évidence dans l'expérience suivante :

Une chenille adulte est inoculée le 25 juin avec une émulsion, dans l'eau physiologique, de Bacilles provenant d'une culture jeune sur gélose ; la chenille est ensuite laissée à la température du laboratoire (environ 18°).

Après 15 minutes, on constate la présence de nombreux Bacilles libres dans le sang ; un très petit nombre de ces Bacilles ont conservé l'aspect coccobacillaire qu'ils présentent dans le sang de diverses chenilles en état d'infection, ou dans les très jeunes cultures (fig. 69) ; le plus grand nombre se présentent sous la forme

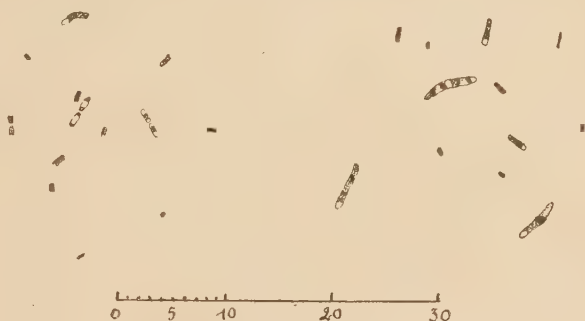


Fig. 69.

de courts bâtonnets dont les extrémités apparaissent généralement tronquées ; cette forme dérive vraisemblablement du type représenté en *b* dans la figure 70 : la substance microbienne est condensée au centre du Bacille et se colore très intensément en bleu par le Giemsa ; la membrane du Coccobacille primitif persiste seule aux deux extrémités où elle délimite une sorte de vacuole ; elle est fortement chromatique.

La figure 69, qui représente une portion du champ microscopique vu avec l'objectif apochromatique 2 mm. et l'oculaire paraplanétique 6, donne une idée approximative de la quantité de Bacilles en suspension dans le sang.



Fig. 70.

Après une heure, les Bacilles commencent à se développer ; leurs dimensions s'accroissent de plus en plus, mais ils ne se divisent pas ; on n'observe pas, en effet, de Bacilles accouplés ou en chaînette ainsi que cela se produit fréquemment dans les liquides où la multiplication des microbes est rapide. Quelques-uns deviennent momentanément vacuolaires dans leur partie médiane (fig. 69). On peut mettre en évidence certains caractères morphologiques de la cellule bactérienne après coloration

au Giemsa : la figure 70 représente trois de ces cellules très fortement grossies, l'élé-

ment figuré en *a*, présente à chacune de ses extrémités, une sorte de vacuole dont les contours extérieurs sont formés par la première membrane du Bacille ; l'élément figuré en *b*, a perdu cette membrane. Dans les trois Bacilles, apparaissent avec beaucoup de netteté, deux doubles bandes chromatiques que l'on peut considérer comme les noyaux de deux cellules-filles en formation, mais ces deux cellules ne se sépareront pas, l'élément continuant de grossir sans se diviser. La première phase du grossissement est ébauchée en *a* : on distingue dans la partie médiane, une masse arrondie colorée en bleu très foncé (le frottis est coloré au Giemsa), plus grosse que le Bacille, ce qui fait apparaître celui-ci légèrement renflé au centre. Cette masse, vraisemblablement formée par condensation de la substance microbienne, constituera la véritable région d'accroissement de la cellule bactérienne.

Après trois heures, on observe un changement considérable dans la forme générale des Bacilles en suspension dans le sang (comparer les figures 69 et 71) ; la masse centrale surcolorée, à peine ébauchée dans quelques microbes, une heure après l'inoculation, apparaît avec beaucoup de netteté dans la plus grande partie des microbes ; beaucoup sont en voie de grossissement rapide et déterminent, dans la partie médiane des Bacilles, une véritable hernie qui donne à ces microbes un aspect très caractéristique (fig. 71 *a*). Il arrive souvent que la masse centrale s'isole du Bacille avant complet développement : elle perd les deux prolongements bacilliformes (*b*) par résorption et reste en suspension dans le sang. Les masses libres apparaissent alors comme des granules de taille variable (*c*) semblables à ceux qui se forment à la suite du processus bactériolytique ordinaire ; mais les deux sortes de granules ne sauraient être confondues car ils sont d'origine très différente.



Fig. 71.



Fig. 72.

Après cinq heures et demie, le sang ne renferme plus de Coccobacilles normaux ; la proportion des masses libres, de grosseur variable, est sensiblement augmentée ; ces masses sont de forme plus ou moins régulièrement arrondie ; certaines d'entre elles sont vacuolaires (fig. 72 *a*). Après action du colorant de Giemsa sur les frottis de sang, on peut réussir à mettre en évidence, dans quelques masses, un réseau chromatophile périphérique (*b*) ou des granules à coloration nucléaire (*c*) ; ces parties différenciées de la substance microbienne, ont pour origine, les bandes chromatophiles du Coccobacille primitif.

Si l'on ensemence sur gélose inclinée, une goutte de sang prélevé à ce moment, on constate que le nombre des colonies qui se développent ultérieurement, est relativement peu élevé ; ce fait démontre que la plupart des masses en suspension dans le sang, ont perdu la faculté de se reproduire sur milieu de culture artificiel. On ne peut dire cependant, que toutes soient dépourvues de vitalité, puisque la plupart d'entre elles sont encore capables de s'accroître en volume ; mais on peut dire qu'elles ont définitivement perdu la faculté de se multiplier par scissiparité.

La réaction de phagocytose est assez forte : on rencontre, dans les micronucléocytes, des Bacilles à tous les stades de transformation (fig. 73) ; ce fait d'observation démontre que la cause des altérations morphologiques subies par les microbes, doit être cherchée dans le sang lui-même et qu'elle est indépendante de l'activité leucocytaire. Un certain nombre de micronucléocytes, comme celui représenté dans la figure 73, sont détruits par les Bacilles et masses microbiennes phagocytés : dans ces éléments en voie de cytololyse, on observe que la chromatine diffuse peu à peu et constitue une masse homogène se colorant plus faiblement que les grains de chromatine du noyau normal ; le cytoplasme est complètement désorganisé et n'apparaît plus que sous forme de petits îlots mal colorés, épars au milieu des éléments microbiens phagocytés.

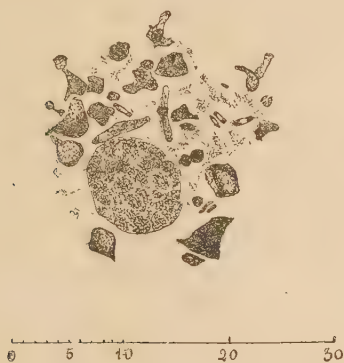


Fig. 73.

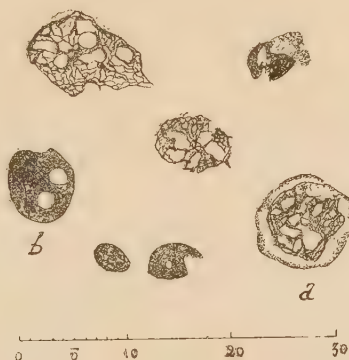


Fig. 74.

Après dix-sept heures, le nombre des masses microbiennes en suspension dans le sang, est très diminué ; leurs dimensions moyennes sont relativement considérables et atteignent fréquemment 9 à 10 μ . (fig. 74). Au point de vue morphologique, certaines de ces masses offrent des caractères très curieux : ainsi, celle représentée en *a* est une véritable cellule avec chromatine bien différenciée fixée sur un substratum filamenteux ; le cytoplasme forme une mince couche périphérique non homogène ; la plupart des autres masses sont réduites au réseau chromatique dont les filaments sont très irrégulièrement anastomosés ; un petit nombre enfin, ne présentent aucune différenciation nette (*b*). Toutes ces masses disparaissent finalement du sang, par un processus analogue, sinon identique, à la cytololyse des éléments sanguins.

Lorsque la quantité de Bacilles inoculés dans la cavité générale des chenilles est considérable, la transformation en masses arrondies se produit dans les mêmes

conditions et suivant le même processus que nous venons d'étudier, mais les dimensions moyennes de chacune, sont nettement inférieures à celles formées dans le sang à la suite d'une faible inoculation de microbes, ainsi qu'on peut le constater au cours de l'expérience suivante :

Une chenille de *Lymantria dispar* est inoculée le 6 juillet avec une culture jeune sur gélose. Examiné quinze heures après, le sang présente l'aspect suivant : nombreuses petites masses libres dont les plus grosses mesurent 1,7 à 1,8 μ de diamètre ; quelques Bacilles libres non transformés ; un certain nombre de ces Bacilles, sinon tous, représentent vraisemblablement les premiers Bacilles englobés par les micronulécocytes peu après leur pénétration dans la cavité générale, et remis ensuite en liberté à la suite de la destruction de ces éléments, destruction consécutive à leur activité phagocytaire exagérée.

Après 47 heures, le nombre des masses libres est sensiblement diminué ; leurs dimensions moyennes sont en augmentation légère ; un certain nombre sont en voie de disparition. On observe encore dans le sang quelques Bacilles d'apparence normale, mais ils ne paraissent pas en voie de multiplication active. L'observation n'a pas été poursuivie plus longtemps.

Les chenilles qui ont résisté à une première inoculation et dans le sang desquelles toute trace d'élément microbien a disparu, se comportent dans l'ensemble comme des chenilles neuves. Cependant, on observe généralement, au cours des premières heures qui suivent l'inoculation, des modifications intéressantes du processus réactionnel ordinaire.

Première Expérience. — Une chenille adulte de *Lymantria dispar* est inoculée une première fois le 19 juin, une deuxième fois, deux jours après et enfin une troisième fois, le 23, avec une culture jeune.

Dix minutes après la réinoculation, on observe la présence dans le sang, de granules semblables à ceux qui se forment dans le sang des chenilles d'*Agrotis segetum* immunisées contre le *B. melolonthæ non liquefaciens* ; la proportion des granules augmente sensiblement après trente minutes et même après une heure ; un certain nombre d'entre eux semblent disparaître par bactériolyse (présence de minuscules granules dans le sang) ; mais le plus grand nombre restent en suspension et grossissent même par la suite.

Après trois heures, la proportion des granules est de 85 à 90 % environ du nombre total des éléments microbiens du sang ; quelques Bacilles non transformés en granules se développent suivant le processus décrit plus haut (renflement médian et formation de masses arrondies) ; beaucoup de granules sont en voie de grossissement.

Après quatre heures et demie, l'aspect du sang est sensiblement le même que celui d'une chenille inoculée pour la première fois. La réaction continue comme s'il s'agissait d'une telle chenille.

Deuxième Expérience. — Une chenille de *Lymantria* est inoculée le 28 juin avec une culture de quinze jours ; deux jours après, elle est réinoculée avec une culture de cinq jours.

On n'observe pas, comme dans l'expérience précédente, la formation de gra-

nules immédiatement après la pénétration des Bacilles dans le sang de la chenille.

Après trois heures, le nombre des Bacilles en suspension dans le sang est considérable ; on commence seulement à observer la formation de renflements médians ; mais le plus grand nombre des Bacilles se transforment en masses arrondies par un processus tout différent : de la forme coccobacillaire, les microbes passent à la forme arrondie, par simple rapprochement des deux extrémités ; puis le granule ainsi formé se transforme directement en masse géante. L'étude cytologique des principaux types de cellule microbienne rencontrés dans le sang, conduit à des résultats intéressants : le type dessiné en *a* dans la figure 75, représente le Coccobacille initial ; il est caracté-

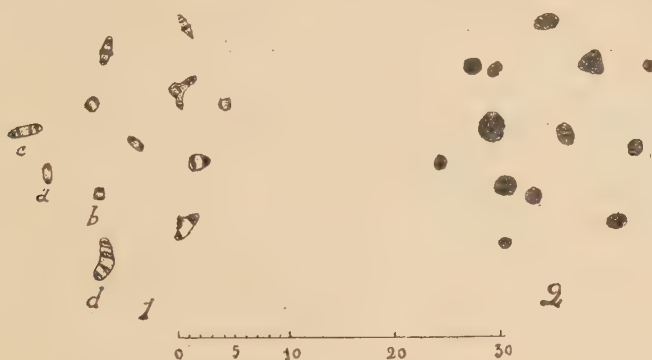


Fig. 75.

risé par la présence à chacun des deux pôles, d'une bande ou mieux, d'une calotte chromatophile ; à la suite du rapprochement des deux extrémités du Bacille, les deux calottes se transforment en bandes marginales qui limitent extérieurement le nouvel élément granulaire (*b*). Certaines cellules plus allongées que le Coccobacille initial, présentent deux doubles-bandes chromatophiles placées dans le voisinage de chacun des deux pôles (*c*) : elles dérivent directement de ce Coccobacille, par division nucléaire et allongement de l'élément ; on peut même observer des cellules plus allongées encore, telles que *d*, dans lesquelles les doubles bandes sont en voie de division. Les cellules allongées sont les seules qui se renflent dans leur partie médiane pour donner naissance à ces masses géantes, caractérisées par la présence de deux prolongements bacilliformes, que l'on rencontre en abondance dans le sang des chenilles inoculées pour la première fois.

Cinq heures après la réinoculation, le sang ne renferme que des masses géantes arrondies, de grosseur variable, qui se colorent intensément par le Giemsa mais ne présentent plus de différenciation nette dans leur intérieur (fig. 75, 2). A partir de ce moment, la réaction continue comme s'il s'agissait d'une chenille inoculée pour la première fois. On ne peut donc considérer les chenilles de *Lymantria* qui ont résisté à une ou plusieurs inoculations de *B. pieris non liquefaciens* α comme étant en état d'immunité véritable contre ce Bacille. La seule différence que l'on peut constater entre ces chenilles et les chenilles neuves, réside dans le mode de formation des masses géantes : dans ces dernières, les masses se forment par allongement des Bacilles et

renflement médian ; dans les autres, au contraire, elles résultent généralement de l'accroissement exagéré de granules dérivant directement des Coccobacilles inoculés. Ces granules peuvent apparaître très tôt dans le sang, avant le grossissement des Bacilles de culture ; dans ce cas, ils sont de petite taille et peuvent disparaître en partie par bactériolyse ; la formation des granules peut être, au contraire, plus ou moins retardée ; dans ce cas, leurs dimensions moyennes sont d'emblée élevées. Après la formation des masses géantes, le processus réactionnel est sensiblement le même dans tous les cas.

L'immunité des chenilles de *Lymantria dispar* contre le *B. pieris non liquefaciens* α , comme celle des chenilles d'*Agrotis segetum* contre le *B. melolonthæ non liquefaciens* ϵ ou celle d'*A. pronubana* contre le Bacille α , est de nature essentiellement humorale ; mais les réactions dont le sang de ces chenilles est le siège, sont d'un type bien différent de celles étudiées chez les chenilles d'*Agrotis*. Nous avons vu que les Bacilles inoculés dans la cavité générale de ces chenilles, subissaient l'influence bactéricide du sang, mais réagissaient à leur tour sur le sang dont ils modifiaient la composition physico-chimique ; les propriétés nouvelles acquises par ce milieu le rendaient aptes à réagir immédiatement sur de nouveaux Bacilles (transformation en granules et bactériolyse rapide et générale). Dans le cas du *B. pieris non liquefaciens* α , au contraire, la composition du sang paraît peu modifiée. Qu'il s'agisse de chenilles ayant déjà été inoculées ou de chenilles neuves, l'action bactéricide du sang se manifeste toujours sensiblement de la même manière ; c'est-à-dire, par une transformation complète du mode de croissance des Bacilles et par une altération profonde de leur vitalité. Cette action bactéricide nous apparaît bien plutôt comme un effet de la composition particulière du sang, qu'une conséquence de l'action diastasique d'anticorps particuliers élaborés par les cellules du sang. C'est d'ailleurs un fait d'observation courante, que la forme d'un Bacille est déterminée par la composition du milieu dans lequel il végète ; en étudiant les formes de croissance, nous avons montré, entre autres, que certaines espèces bactériennes, en cultivant dans des milieux de composition spéciale, donnaient naissance à des cellules aberrantes dont la forme ne rappelait en rien celle des Bacilles normaux. Les mêmes causes qui agissent dans ces milieux pour transformer le mode de croissance des microbes, paraissent agir également dans le cas particulier du sang vivant des chenilles de *L. dispar* ; le mécanisme des réactions humérales, serait donc dans ce cas, d'une assez grande simplicité ; malheureusement, l'explication que nous donnons ne précise pas la nature exacte des forces qui agissent pour transformer le mode de croissance des Bacilles ; mais ce problème de l'influence du milieu sur la morphologie des êtres vivants qui l'habitent, n'est-il pas un des moins connus et des plus discutés de la Biologie ? Connaît-on mieux, par exemple, la cause réelle des transformations morphologiques de l'appareil végétatif d'un *Mucor* qui passe d'un milieu nutritif en large contact avec l'air, dans la profondeur d'un milieu sucré ?

IV. — Cas du *B. bombycis non liquefaciens*.

L'inoculation du *B. bombycis non liquefaciens* dans la cavité générale des chenilles de *L. dispar*, donne lieu à des réactions humérales du même type que celles

étudiées dans le cas précédent. Les différentes phases du processus réactionnel sont mises en évidence dans l'expérience suivante :

Quatre chenilles adultes de *L. dispar* sont inoculées le 26 juin avec une culture de trois jours, puis abandonnées à la température du laboratoire (19° environ).

Après sept heures, le sang de chacune des chenilles ne tient plus en suspension qu'une proportion insignifiante de Bacilles normaux. On observe, par contre, la présence d'un très grand nombre de masses géantes de forme et de dimensions très variables, ainsi qu'on peut le constater à l'examen de la figure 76. Beaucoup de ces masses ont la forme de cupules fortement colorées (après coloration au Giemsa), paraissant remplies de substance hyaline, non colorable, ou légèrement teintées de rose. A côté de ces masses, dont la signification morphologique nous échappe, on en rencontre d'autres



Fig. 76.

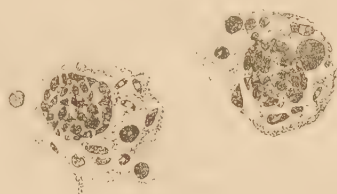


Fig. 77.

plus ou moins régulièrement arrondies, de composition relativement homogène, semblables à celles formées par le *B. pieris non liquefaciens* α ; elles sont de grosseur très variable : les plus grosses mesurent 7 μ de diamètre, les plus petites, sont de l'ordre de grandeur des granules ordinaires. Dans les micronucléocytes, on rencontre tous les stades de transformation des Bacilles inoculés. L'examen du contenu d'une de ces cellules donne donc immédiatement des indications précises sur les diverses phases du processus réactionnel, pendant les premières heures qui suivent l'inoculation (fig. 77).

On n'observe pas, comme dans le cas d'immunité étudié précédemment, que les Bacilles se renflent dans leur partie médiane pour donner naissance aux masses géantes ; ces masses résultent simplement d'un gonflement général du Bacille.

Après treize heures et demie, la plupart des masses bactériennes en suspension dans le sang ont une forme plus ou moins régulièrement arrondie ; beaucoup sont vacuolaires et plus ou moins échan-crées sur leur pourtour (fig. 78), elles sont plus grosses, en général, qu'au moment de l'observation précédente.

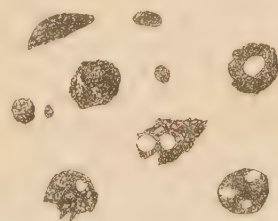


Fig. 78.

Après vingt-quatre heures, le nombre des masses libres a diminué notablement. Leurs dimensions sont encore légèrement accrues ;

Après trente et une heures, les masses sont devenues énormes ; leurs caractères morphologiques rappellent ceux des masses issues du *B. pieris non liquefaciens* α .

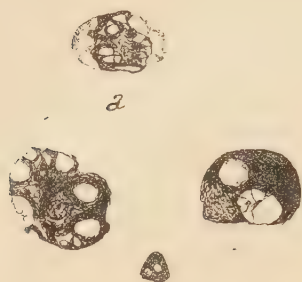


Fig. 79.

Quelques-unes ont l'apparence de véritables cellules avec partie centrale chromatophile (fig. 79 a) ; ce noyau ou pseudo-noyau, présente la structure filamenteuse des formations similaires décrites plus haut. La plupart des masses ne présentent aucune différenciation mais se colorent comme le noyau. Elles disparaissent du sang par un processus analogue à la chromatolyse : sur frottis colorés au Giemsa, elles apparaissent comme des taches teintées de rose.

Les mêmes remarques que nous avons faites au sujet du mécanisme de l'immunité des chenilles de *L. dispar* contre le *B. pieris non liquefaciens* α sont aussi valables pour le cas du *B. bombycis non liquefaciens*.

V. — Cas du *B. MELOLONTHAE LIQUEFACIENS* γ .

Ce Coccobacille, au cours de la première année où il a été isolé, s'est comporté comme un microbe très pathogène pour toutes espèces d'Insectes. Nous avons étudié assez longuement les « formes de croissance » curieuses obtenues souvent dans le sang des chenilles de *L. dispar*. Nous avons aussi étudié en détail, l'action du Bacille sur les micronucléocytes du sang des chenilles d'*Euproctis chrysorrhæa*. Mais jamais, jusqu'à cette dernière année (1921), nous n'avions eu l'occasion d'observer des cas d'immunité positive contre ce Bacille. La culture prolongée sur milieu de culture artificiel a donc eu pour effet de modifier très sensiblement la virulence du microbe parasite. Il est à noter aussi, et nous le verrons plus en détail en étudiant les expériences relatives à l'immunité des chenilles de *Lymantria* contre ce microbe, que la production des formes de croissance, est devenue à peu près normale alors qu'elle était exceptionnelle pendant les deux premières années de culture.

L'immunité des chenilles de *L. dispar* contre *B. melolonthæ liq.* γ est essentiellement humorale ; elle présente beaucoup d'analogies avec les deux cas d'immunité étudiés précédemment, ainsi qu'on peut le constater par l'expérience suivante :

Deux chenilles de *L. dispar* sont inoculées le 19 juin avec une culture de vingt-quatre heures, et abandonnées à la température du laboratoire (18° environ).

Après une heure et demie, les Bacilles sont relativement peu nombreux dans le sang ; quelques-uns commencent à peine à se développer, mais le plus grand nombre ont conservé l'aspect de Bacilles de culture, c'est-à-dire sont restés minces et de longueur très variable ainsi qu'on peut le voir par l'examen de la figure 80 (1).

Après quatre heures, la plupart des Bacilles sont en voie de grossissement et de multiplication ; mais on en rencontre encore peu dans le sang (moins de 1 par champ microscopique). Leur forme est celle représentée dans la figure (2).

Après neuf heures, le nombre des Bacilles a plus que décuplé ; la plupart d'entre eux sont plus gros et plus allongés que les Bacilles normaux ; quelques-uns même sont nettement filamenteux (fig. 81 a) ; beaucoup se renflent dans leur partie médiane, comme le *B. pieris liquefaciens* α ; un certain nombre, comme le Bacille filamenteux représenté dans la figure, sont pourvus de deux renflements.

Jusqu'à ce moment, on peut constater que l'infection progresse régulièrement et rapi-

dement ; malgré la tendance marquée des Bacilles à l'allongement et à l'épaississement, ceux-ci se multiplient très activement dans le sang.

Vers la neuvième ou dixième heure, apparaissent des masses géantes arrondies, de grosseur variable, dont le nombre croît très rapidement à mesure que disparaissent les éléments bacilliformes. Elles se forment ainsi qu'on peut le voir dans la figure 81 (b), par isolement de la partie renflée du Bacille et résorption des prolongements bacilliformes. A partir de ce moment, les Bacilles cessent de se multiplier et on assiste à la

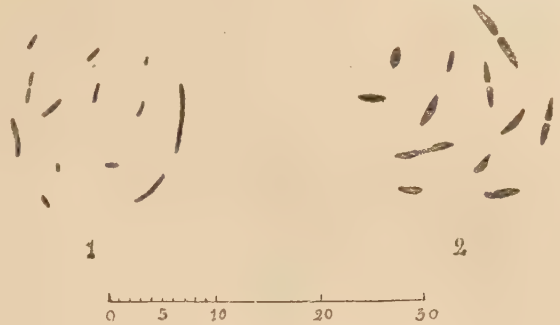


Fig. 80.



Fig. 81.

disparition progressive des masses géantes et des éléments bacilliformes. Certains de ces éléments dégèrent avant d'avoir pu donner naissance à une masse géante arrondie ; la figure 82 représente l'un d'eux (a), au début de la phase de dégénérescence.

Vingt-quatre heures après l'inoculation, le sang ne renferme plus qu'un nombre de masses géantes bien inférieur à celui des éléments microbiens de toutes formes, rencontrés quinze heures auparavant. Ces masses sont généralement de taille énorme ; morphologiquement, elles présentent beaucoup d'analogies avec celles formées par les deux Bacilles précédemment étudiés ; elles sont caractérisées comme elles, par leur structure plus ou moins filamenteuse et par leur chromatophilie (fig. 82). Les masses géantes disparaissent du sang par un processus analogue à celui que nous avons

décrit plus haut ; nous avons déjà dit que les éléments bacilliformes pouvaient disparaître aussi avant la formation de la masse arrondie issue du renflement ; la figure 82 représente un de ces éléments en état de dégénérescence avancée (a).

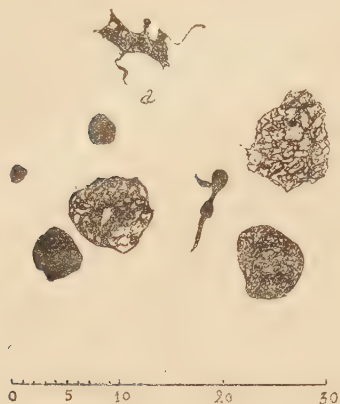


Fig. 82.

me d'une plaque uniformément teintée de rose (après coloration au Giemsa) ; les inclusions perdent leurs contours précis et s'estompent de plus en plus pour disparaître finalement sans laisser de traces ; la figure 83 représente deux de ces cellules en voie de destruction.

On peut observer aussi un autre processus tout différent de destruction cellulaire : dans certaines cellules, comme celle représentée en a dans la fi-

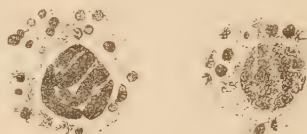


Fig. 83.



Fig. 84.

gure 84, les chromosomes se soudent entre eux pour former un petit nombre de grosses masses chromatophiles, intensément colorées ; dans un autre stade, représenté en b, les masses nucléaires se dispersent dans le cytoplasme ; le dernier stade, représenté en c, est caractérisé par la destruction complète de la cellule. Le processus morbide dont nous venons de résumer sommairement les phases principales, débute donc par une altération profonde du noyau qui aboutit à sa destruction ; ce processus est bien connu en pathologie ; on l'observe fréquemment dans les suppurations à cause microbienne. Cette fragmentation caractéristique du noyau est dite fragmentation en pycnose ; mais on en ignore les causes profondes.

L'immunité des chenilles de *L. dispar* contre le *B. melolonthæ liquefaciens* γ doit être considérée comme une immunité purement humorale ; elle diffère de l'immunité des mêmes chenilles contre le *B. piers non liquefaciens* α par les caractères suivants : absence de toute réaction cellulaire ; multiplication active des Bacilles dans

le sang avant le déclenchement du processus réactionnel humoral. Le déclenchement de ce processus en cours d'infection, laisse supposer que le sang de *Lymantria* acquiert ses propriétés microbicides seulement après que les Bacilles ont agi, par leurs produits de sécrétion, sur sa composition générale. Mais alors, il semblerait que ce milieu dût conserver ses propriétés microbicides. Ce n'est pas la conclusion qui se dégage de l'expérience suivante :

Deux chenilles de *L. dispar* sont inoculées : une première fois, le 17 juin avec une culture de un mois, une deuxième fois, le 19, avec la même culture qui a servi pour l'expérience précédente. Ces deux chenilles ont été examinées aux mêmes heures que celles inoculées pour la première fois.

Après neuf heures, le sang de l'une est riche en Bacilles anormalement gros et allongés (aspect figure 81), dont la plupart présentent un renflement médian ; celui de l'autre, au contraire, ne renferme qu'un petit nombre de Bacilles en voie de développement.

Après vingt-quatre heures, la première chenille meurt en état d'infection ; le sang, d'aspect trouble, est très riche en Coccobacilles typiques mais ne renferme plus de Bacilles énormes avec renflement médian. La deuxième chenille résiste au contraire à l'infection ; l'aspect du sang est le même que celui des chenilles de l'expérience précédente. Il ne paraît donc exister aucune différence dans les processus réactionnels qui se déroulent dans le sang des chenilles neuves et dans celui des chenilles ayant déjà résisté à une première inoculation. A moins de supposer que le pouvoir bactéricide du sang disparaisse aussitôt après la destruction des éléments microbiens, ce qui paraît peut vraisemblable, l'hypothèse d'une modification stable de la composition générale du sang sous l'influence des Bacilles, doit être écartée. On peut envisager une autre explication des processus réactionnels : pendant les premières heures de leur développement, les Bacilles inoculés dans la cavité générale des chenilles, se comportent comme des cellules fragiles mal équilibrées ; ce déséquilibre, qui paraît avoir pour cause une différence de pression osmotique exagérée entre la substance microbienne et le milieu sanguin, s'accroît encore avec la formation de cellules nouvelles ; il arrive un moment où ces cellules deviennent incapables de se multiplier : l'infection atteint alors son point culminant. A partir de ce moment elle décroît lentement, par destruction progressive des masses bactériennes dépourvues de vitalité. Si la quantité de Bacilles inoculés est considérable, le développement simultané de nombreuses cellules bactériennes et la mise en liberté de produits bactériens nouveaux, déterminent un changement plus ou moins important dans la pression osmotique du sang. Les Bacilles peuvent alors se multiplier comme ils le feraient dans un milieu de culture ordinaire.

VI. — Cas du B. PROTEIDIS

Ce Bacille est généralement peu pathogène pour les Insectes. Inoculé dans la cavité générale de chenilles de Macrolépidoptères, il détermine assez rarement leur mort. Les processus réactionnels qui se déroulent dans le sang des chenilles, à la suite de l'inoculation, sont d'un type assez particulier : nous les avons mis en évidence chez

les chenilles de *Vanessa polychloros*. L'expérience suivante en résume les principales phases :

Une chenille de Vanesse est inoculée le 28 mai avec le sang d'une chenille venant de succomber à l'infection déterminée par le *B. proteidis*. Aussitôt après l'inoculation, l'aspect des Bacilles est celui représenté dans la figure 85 : leur forme varie dans d'assez grandes proportions (le nom du Bacille est tiré de ce caractère morphologique) ; ils se colorent intensément et d'une manière très homogène.

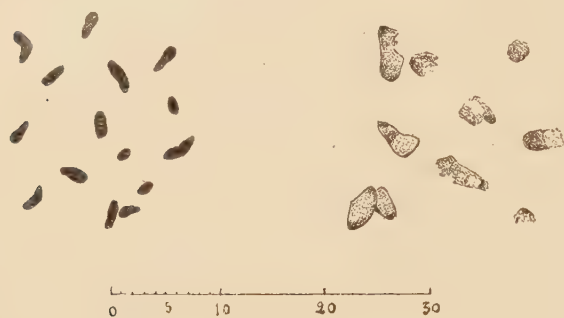


Fig. 85.

Après quelque temps de contact avec le sang vivant, on constate que la plupart des Bacilles se gonflent plus ou moins en perdant peu à peu leur colorabilité. Cinq heures après l'inoculation, le plus grand nombre sont en voie de destruction et se présentent sous forme de masses irrégulièrement arrondies, peu colorées. Les autres

ont encore l'apparence de Bacilles normaux, mais ils se multiplient faiblement, ils subissent finalement l'action bactéricide du sang ; aussi après dix-sept heures, ne rencontre-t-on plus, dans le sang, que des Bacilles gonflés irrégulièrement colorés, en voie de désorganisation. La réaction de phagocytose est faible. Dans le sang des chenilles de *Lymantria dispar*, *Euproctis chrysorrhæa*, elle est beaucoup plus intense.

Les chenilles qui ont résisté à une première inoculation, et dans le sang desquelles on ne trouve plus de Bacilles libres, réagissent comme les chenilles neuves après une nouvelle inoculation de microbes.

L'immunité des chenilles contre le *B. proteidis*, peut être considérée comme un nouvel exemple d'immunité humorale. Les réactions qui se déroulent dans le sang, paraissent cependant d'un type bien différent de celles étudiées précédemment : en effet les Bacilles ne se transforment pas en masses arrondies qui grossissent un certain temps avant de disparaître dans le sang : ils se gonflent simplement, perdent leur colorabilité et disparaissent peu à peu (fig. 85). La cellule bactérienne se révèle donc comme une cellule très fragile. Tout se passe dans la réaction, comme si la pression osmotique de la substance bactérienne était très supérieure à celle du sang environnant : cette différence d'équilibre aurait pour conséquence, un enrichissement de plus en plus grand de cette substance en eau ; d'où diminution progressive de la colorabilité et destruction finale de la cellule.

Les six cas d'immunité que nous venons d'étudier, appartiennent sans conteste, à la catégorie d'immunité qu'on est convenu d'appeler « humorale ». Ils diffèrent notablement les uns des autres et la même hypothèse ne peut servir pour expliquer les différentes réactions humorales qui composent le tableau biologique caractérisant chacun d'eux. Aucun ne peut être attribué à l'action bactéricide d'une substance particulière préformée dans le sang ou élaborée au cours de l'infection ;

toutes les réactions observées semblent avoir pour cause des modifications physico-chimiques de la substance microbienne et du milieu sanguin, modifications déterminées par l'action réciproque des deux complexes organiques vivants. Le manque de précision des hypothèses que nous avons successivement émises pour expliquer le mécanisme des différentes réactions observées, est une conséquence de l'insuffisance de nos connaissances sur la chimie des colloïdes vivants. En multipliant l'étude des cas d'espèce, on peut espérer, tout au plus, mettre en évidence un certain nombre de lois générales qui modifieront plus ou moins notre conception actuelle du mécanisme de l'immunité, mais on ne pourra sortir de l'imprécision des hypothèses générales, que lorsqu'on aura précisé les lois qui régissent les rapports des colloïdes organiques entre eux. Malheureusement, ce chapitre de la Chimie est à peine ébauché et de nombreuses années s'écouleront encore avant que nous puissions nous faire une idée exacte du mécanisme des réactions, même les plus simples, dont les tissus de l'être vivant sont le siège.

IMPORTANCE DU RÔLE DES CELLULES ET DU SANG DANS L'IMMUNITÉ, CHEZ LES INSECTES.

L'opinion presque unanime, considère la phagocytose comme le « pivot de l'immunité antimicrobienne naturelle » (1) D'après l'étude que nous avons déjà faite des principaux cas d'immunité humorale observés chez un certain nombre de chenilles de Macrolépidoptères, il ne semble pas que cette opinion absolue soit fondée, au moins chez les Insectes. Pour nous rendre compte de l'importance relative de la phagocytose et des réactions humérales dans l'immunité, il est nécessaire d'étudier comparative-ment l'action pathogène des différents microbes entomophytes, sur un certain nombre d'Insectes.

Les Bacilles les plus pathogènes, sont généralement peu phagocytés et ne subissent pas l'influence bactéricide du sang ; les espèces suivantes peuvent être rangées dans ce groupe : *B. melolonthæ liquefaciens* α , β et γ ; *B. lymantricola adiposus*, *B. lymantriæ* β ; *B. pieris fluorescens*, *B. pieris liquefaciens* α et β , *B. pieris non liquefaciens* β , *B. pieris agilis*. Parmi les autres, le plus grand nombre subissent plus ou moins l'influence bactéricide du sang, mais quelques-uns, comme *B. liparis*, *Diplococcus liparis*, *Diplococcus melolonthæ*, *Diplobacillus melolonthæ*, *Diplococcus* et *Diplobacillus pieris* paraissent résister à cette action. Il est à remarquer que toutes ces espèces restent colorées par la méthode de Gram.

I. — Action pathogène du *B. liparis* sur les Insectes.

Nous avons suffisamment étudié cette action au cours du présent chapitre, pour qu'il n'y ait pas lieu d'y revenir à nouveau. Toutes les expériences que nous avons faites, aboutissent à cette conclusion que le *Bac. liparis* résiste de façon absolue à l'influence bactéricide du sang, mais manifeste une affinité remarquable pour les

(1) ARTHUS. — Précis de Physiologie microbienne.

éléments phagocytants du sang de toutes espèces d'Insectes. Néanmoins beaucoup d'entre eux s'infectent après l'inoculation d'une quantité modérée de Bacilles ; cette apparente anomalie s'explique par le fait que les microbes offrent une grande résistance à l'action digestive leucocytaire et peuvent détruire, par leur accumulation, les cellules qui les ont englobés.

II. — Action pathogène du *Diplococcus liparis*.

Première Expérience. — Le 28 mai à 20 heures 1/2, six chenilles d'*Euproctis chrysorrhœa* sont inoculées avec une culture de deux jours, et abandonnées à la température du laboratoire (16° environ). Après soixante-sept heures, l'aspect du sang des chenilles inoculées est le suivant.

1. Pas de Diplocoques libres ; peu dans les micronucléocytes. Beaucoup d'éléments sans microbes ; quelques-uns avec nombreux Diplocoques intraprotoplasmiques.
2. Quelques Diplocoques libres ; grand nombre phagocytés.
3. Comme celui de chenille 2.
- 4 et 5. — Diplocoques assez nombreux ; chenilles en voie d'infection ; phagocytose intense ; quelques micronucléocytes en voie de destruction par suite de l'abondance des microbes englobés. Fig. 86.)
6. Infection généralisée ; grande majorité des micronucléocytes détruits.

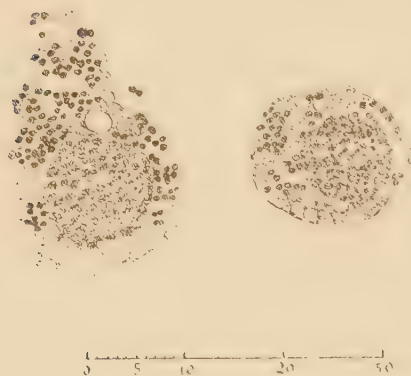


Fig. 86.

Sur les six chenilles inoculées, trois sont en voie d'infection ou déjà infectées ; le sang des trois autres, par le seul effet de la phagocytose, est redevenu normal ; on ne peut donc nier que l'immunité, dans ces différents cas, ne soit de nature uniquement cellulaire. D'une manière générale, les chenilles ou autres insectes inoculés avec *D. liparis*, offrent moins de résistance à l'infection que les mêmes Insectes inoculés avec le *Bac. liparis*. Cette différence de réceptivité tient d'abord à ce que ce dernier microbe

est plus rapidement phagocyté que le Diplocoque : ainsi deux heures après l'inoculation, le plus grand nombre des Bacilles sont phagocytés alors que la phagocytose des Diplocoques est à peine commencée ; d'autre part, le Bacille se multiplie moins rapidement que le Diplocoque, ce qui favorise la réaction au détriment de l'infection.

Deuxième Expérience. — Quatre chenilles adultes de Livrée (*Malacosoma neustria*) sont inoculées le 29 mai à 19 heures avec une culture de trois jours, et abandonnées à la température du laboratoire.

Trois jours après, toutes les chenilles sont mortes infectées, malgré l'intensité de la phagocytose.

Le Diplocoque se montre plus pathogène pour les chenilles de Livrée que pour celles d'*Euproctis* ; il est également plus pathogène pour les chenilles de *Vanessa urticae*, de *Pieris brassicae*.

Troisième Expérience. — Le 3 juillet, six chenilles adultes de *Lymantria dispar* sont inoculées à 14 heures, avec une culture de 8 jours.

Quarante-huit heures après, l'aspect du sang de chacune des chenilles est le suivant :

1. Quelques Diplocoques libres ; micronucléocytes bourrés de microbes ; infection en progrès ;
2. Diplocoques libres plus nombreux ; la plupart des micronucléocytes, bourrés de microbes ; beaucoup, en voie de destruction ;
- 3, 4 et 5. Pas de Diplocoques libres ; relativement peu dans les cellules ;
6. Infection généralisée.

Quatrième Expérience. — Quatre chenilles de *Lymantria* sont inoculées le 4 juillet avec une culture de trois jours ; le sang, examiné vingt-quatre heures après, présente l'aspect suivant :

1. Quelques Diplocoques libres ; micronucléocytes généralement bourrés de microbes ; beaucoup en voie de destruction ;
2. Quelques Diplocoques libres ; micronucléocytes moins bourrés de microbes ;
- 3 et 4. Pas de microbes libres.

Vis-à-vis du *Dipl. liparis*, les chenilles de *L. dispar* se comportent comme celles d'*Euproctis*. En décrivant le Diplocoque, nous avons signalé que cette espèce ne se rencontrait pas seule dans le sang, mais était associée avec des Coccobacilles divers.

III. — Action pathogène du *Diplococcus melolonthæ*.

Première Expérience. — Le 7 mai, cinq Hannetons sont inoculés avec une culture de huit jours ; vingt-quatre heures après, deux meurent en état d'infection les trois autres sont en état d'infection avancée. Le pouvoir pathogène du Diplocoque pour le Hanneton, est donc comparable à celui des Coccobacilles ; la réaction de phagocytose est à peu près nulle.

Les Rhyztrogues (*R. solstitialis*) se comportent vis-à-vis du *D. melolonthæ*, comme le Hanneton ordinaire.

Deuxième Expérience. — Le 23 juin, six chenilles d'*Eriogaster lanestris* sont inoculées avec une goutte de culture en bouillon sucré de quarante-huit heures. Le sang est examiné dix-huit heures après : dans chacune des chenilles, on trouve des microbes libres, mais en petit nombre ; on en trouve peu aussi dans les micronucléocytes. Toutes les chenilles inoculées meurent le troisième jour en état d'infection.

Après trois passages par chenilles d'*Eriogaster*, la virulence n'est pas sensiblement modifiée. On peut donc considérer le Diplocoque comme une espèce relativement pathogène pour les chenilles d'*E. lanestris* ; la réaction de phagocytose, qui est relativement intense, a pour seul effet de retarder la généralisation de l'infection.

Troisième Expérience. — Le 30 juin, six chenilles de *Lymantria dispar* sont inoculées avec une goutte de sang d'*Eriogaster* riche en microbes. Le 2 juillet, toutes les chenilles sont en état d'infection généralisée, et cependant la réaction de phagocytose est très intense.

Au troisième passage, deux chenilles de *Lymantria*, semblent résister à l'in-

fection, mais leur sang renferme encore quelques Diplocoques libres, deux jours après l'inoculation.

En résumé, *Diplococcus melolonthæ* peut être considéré comme un microbe relativement très phagocytable, mais néanmoins, pathogène pour la plupart des Insectes. Il est assez rapidement digéré par les éléments phagocytants du sang.

IV. — Action pathogène du *Diplobacillus melolonthæ*.

Première Expérience. — Quatre chenilles d'*Euproctis chrysorrhæa* sont inoculées le 25 mai, à 16 heures, avec une culture de quatre jours.

Le lendemain matin, à 8 heures, le sang de toutes les chenilles renferme un assez grand nombre de Diplobacilles libres ; beaucoup sont phagocytés par les micronucléocytes.

Le surlendemain matin, toutes les chenilles sont encore vivantes, mais le nombre des microbes en liberté dans le sang, est beaucoup plus grand que la veille ; les micronucléocytes apparaissent généralement bourrés de microbes et beaucoup sont détruits ou en voie de destruction.

Une des chenilles meurt infectée le même jour à 21 heures ; une deuxième meurt dans la nuit ; une troisième, le lendemain à 14 heures, et la dernière, le 29 mai à midi, soit, près de quatre jours après l'inoculation.

Des chenilles d'*Eriogaster lanestris* et de *Vanessa urticæ* inoculées avec Diplobacilles de culture se sont toutes infectées en moins de deux jours ; l'examen du sang, en cours d'infection, montre que les micronucléocytes englobent beaucoup moins de microbes que ceux des chenilles d'*Euproctis*. L'insuffisance de la phagocytose, explique la rapidité plus grande du processus infectieux, dans le sang des premières chenilles.

Deuxième Expérience. — Cinq chenilles de *L. dispar* sont inoculées le 30 juin avec une goutte de sang de chenille infectée : trois jours après, deux chenilles succombent à l'infection ; les trois autres résistent mais dans leur sang, on trouve encore quelques traces de Diplobacilles ; les micronucléocytes renferment de nombreux microbes.

La virulence du *Diplobacillus melolonthæ* augmente peu à la suite de passages successifs par chenilles de *Lymantria*. Ainsi, du 12 juin au 26 juillet, nous n'avons pu faire que cinq passages consécutifs ; au cours de chacun d'eux, deux à trois chenilles seulement, sur cinq inoculées, succombaient à l'infection après un intervalle qui variait de 2 à 3 jours ; les autres résistaient grâce à l'action phagocytante des micronucléocytes.

Les chenilles de *L. dispar* se comportent vis-à-vis du *D. melolonthæ*, comme celles d'*Euproctis chrysorrhæa*. Il est indéniable que les micronucléocytes de ces deux espèces de chenilles jouent un rôle prépondérant dans la marche du processus infectieux ; ils la retardent très sensiblement et l'enrayent même assez souvent. Le rôle des éléments phagocytants est surtout capital pendant les premières heures qui suivent l'inoculation : en effet, la multiplication des Bacilles suit une progression géométrique tandis que l'englobement phagocytaire, proportionnel il est vrai à l'augmentation du nombre des Bacilles, suit néanmoins une progression beaucoup moins rapide ; pour

réussir à faire disparaître en totalité les éléments en suspension dans le sang, il est essentiel que les micronucléocytes englobent la plus grande partie des microbes avant que ceux-ci aient eu le temps de pulluler dans le sang ; cette éventualité se produit seulement dans les cas où le développement du microbe est retardé (c'est celui du *Diplobacillus melolonthæ*) et où le microbe possède une grande affinité pour les éléments phagocytants.

V. — Action pathogène du *Diplococcus pieris*.

Première Expérience. — Quatre chenilles de *Vanessa urticæ* sont inoculées le 25 juin avec une culture du 5 juin. Après seize heures, on observe la présence de nombreux Diplocoques libres dans le sang ; dans les micronucléocytes, le nombre des Microbes est très faible. Les chenilles de Vanesse ne paraissent donc pas offrir de résistance à l'infection par le *Diploc. pieris*. Les chenilles de *Pieris brassicæ* se comportent de la même manière.

Deuxième Expérience. — Quatre chenilles d'*Eriogaster lanestris* sont inoculées le 24 juin avec une culture du 5 juin. Après 26 heures, le sang de trois des chenilles ne renferme qu'un nombre relativement peu élevé de Cocci libres ; et cependant la réaction de phagocytose est peu intense. Le développement des microbes paraît entravé et l'infection ne progresse que très lentement. Le sang de la troisième chenille est un peu plus riche en Cocci que celui des deux autres, mais le nombre des microbes phagocytés est faible.

Troisième Expérience. — Quatre chenilles de *Lymantria dispar* de différentes grosseurs sont inoculées le 15 juin, avec une culture du 5 juin. Vingt-six heures après l'inoculation, le sang des trois plus petites chenilles est assez riche en Cocci ; l'intensité de la réaction de phagocytose peut être considéré comme faible, par rapport au nombre des microbes en suspension dans le sang.

Le sang de la plus grosse chenille renferme beaucoup moins de Cocci que celui des trois autres ; phagocytose peu intense.

En résumé, la résistance des chenilles de *L. dispar* à l'infection causée par *D. pieris*, peut être considérée comme faible ; la seule réaction de défense observée est la phagocytose.

VI. — Action pathogène du *Diplobacillus pieris*.

Première Expérience. — Quatre chenilles d'*E. chrysorrhœa* sont inoculées le 22 mai avec une culture de huit jours.

Vingt-quatre heures après l'inoculation, le sang de chacune de ces chenilles ne renferme qu'un petit nombre de Bacilles de très petite taille ; le nombre des Bacilles englobés par les micronucléocytes, est de même peu élevé. La réaction de phagocytose ne peut donc expliquer à elle seule la résistance des chenilles à l'infection ; cette résistance paraît avoir pour cause essentielle, la composition même du sang de chenille ; elle serait alors de type humoral ; nos expériences ne sont cependant pas assez nombreuses pour émettre une opinion définitive sur ce point particulier.

Deuxième Expérience. — Quatre chenilles de *L. dispar* de différentes grosseurs, sont inoculées le 15 juin avec une culture de dix jours.

Vingt-quatre heures après l'inoculation, les trois plus petites chenilles sont en état d'infection avancée, bien que la réaction de phagocytose soit très intense. Il n'existe aucun indice de réaction humorale et les Bacilles se développent librement dans le sang, comme s'il s'agissait de Coccobacilles pathogènes. Le sang de la plus grosse chenille est relativement pauvre en Bacilles libres ; la phagocytose, très intense, explique la progression très lente de l'infection.

Les chenilles de *Vanessa urticae*, *Pieris brassicae*, sont assez sensibles à l'infection par le *Diplob. pieris* ; la réaction de phagocytose est très faible et le Bacille se multiplie rapidement dans le sang.

Tous les microbes dont nous venons d'étudier l'action pathogène sur différentes espèces d'Insectes, sont caractérisés par la résistance qu'ils offrent à l'action bactéricide du sang de ces Insectes. La réaction de phagocytose représente donc leur seul mode de défense contre l'infection. Nous avons vu que cette réaction était souvent impuissante à enrayer la marche du processus infectieux, au moins dans les cas où le sang de l'Insecte constitue un bon milieu de culture pour le microbe inoculé ; et cependant, le rôle de défense est favorisé par la lenteur du développement des espèces microbiennes (sur milieu de culture artificiel, comme en milieu vivant, la multiplication est moins rapide que celle des Coccobacilles) ; si les cas d'immunité ne sont pas plus fréquents, c'est que l'importance qu'on attache au rôle joué par les éléments phagocytants, est certainement exagéré.

L'étude des réactions d'immunité engendrées par les Bacilles plus ou moins sensibles à l'action bactéricide du sang, ne peut que renforcer cette opinion.

1° — Cas du *Diplococcus bombycis*.

Morphologiquement, cette espèce se rapproche beaucoup des Diplocoques dont nous venons d'étudier l'action pathogène sur divers Insectes ; elle s'en rapproche aussi par les caractères des cultures sur milieux artificiels ; mais elle diffère notablement des même microbes par les réactions qu'elle engendre dans l'organisme de certaines chenilles de Macrolépidoptères comme celles de *Lymantria dispar*, *Malacosoma neustria*, *Euproctis chrysorrhæa*.

Première Expérience. — Quatre chenilles adultes de *Malacosoma neustria* sont inoculées le 29 mai avec une culture de huit jours, et abandonnées à la température du laboratoire (15-16°).

Quarante-huit heures après l'inoculation, deux des chenilles sont en état d'infection généralisée ; les micronucléocytes apparaissent bourrés de microbes.

Le sang de l'une des deux autres chenilles présente l'aspect suivant : peu de Diplocoques libres ; phagocytose presque nulle ; un certain nombre de Cocci sont en voie de destruction et apparaissent colorés seulement sur leur pourtour. On ne peut donc nier que, dans ce cas, le microbe ne subisse l'action bactéricide du sang ; cependant, cette action n'est pas encore assez profonde pour arrêter complètement l'infection.

L'action humorale est encore moins marquée dans le sang de la dernière chenille ; aussi, les Diplocoques peuvent-ils se multiplier plus activement ; au moment de l'examen, ils commencent à pulluler dans le sang ; la réaction de phagocytose est très faible.

Deuxième Expérience. — Quatre chenilles d'*E. chrysorrhæa* sont inoculées le 5 juin avec une culture de 8 jours et laissées à la température de 16° environ. Les quatre chenilles résistent à l'infection et quarante-trois heures après l'inoculation, on ne trouve plus aucun Diplocoque libre dans le sang de chacune d'elles. Les micro-nucléocytes de deux des chenilles, ne renferment aucun microbe ni débris microbien ; ceux des deux autres montrent encore des traces nombreuses de phagocytose. Les Diplocoques encore visibles dans le cytoplasme, apparaissent sous forme d'inclusions sensiblement plus grosses que les Diplocoques normaux ; les différents signes d'altération présentés par ces microbes, donnent à penser que ces altérations sont antérieures à l'englobement phagocytaire ; l'expérience suivante apporte une confirmation de cette manière de voir.

Troisième Expérience. — Deux chenilles d'*Euproctis*, dont l'une a déjà reçu une première injection de Diplocoques deux jours auparavant, sont inoculées, le 10 juin, avec une culture de huit jours.

Dix minutes après l'inoculation, l'aspect des microbes est celui représenté dans la figure 87 (à gauche) : forme ovoïde plus ou moins allongée ; dimensions assez régulières ; coloration homogène.

Après cinq heures, la forme des Cocci et chaînettes, dans le sang de l'une et de l'autre chenille, est notablement modifiée : les éléments microbiens ont tendance à

s'arrondir et même à s'aplatir sur le petit axe (fig. 87) ; quelques-uns sont en voie de bactériolyse ; un certain nombre paraissent réduits à leur enveloppe qui apparaît seule colorée.

La phagocytose semble plus intense dans le sang de la chenille réinoculée que dans celui de la chenille neuve ; Cocci normaux ou altérés, disparaissent alors plus rapidement du sang de la première. Cette différence dans le processus réactionnel est plutôt quantitative que qualitative : en effet, l'englobement phagocytaire est sensiblement le même dans les deux cas, mais les éléments cellulaires en suspension dans le sang sont plus nombreux chez la chenille réinoculée que chez l'autre ; ce qui paraît tenir à l'hypoleucocytose provoquée par une première inoculation d'émulsion microbienné.

L'immunité des chenilles de *L. dispar* contre le *D. bombycis* est sensiblement la même que celle des chenilles d'*Euproctis*. Pour déterminer l'infection des deux

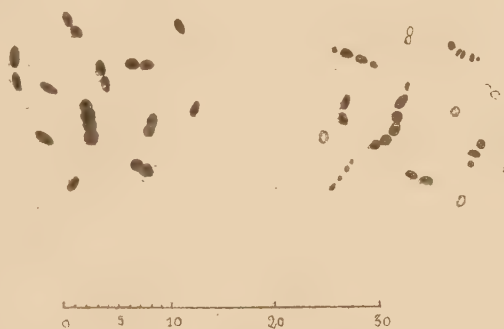


Fig. 87.

espèces de chenilles, il est nécessaire d'inoculer une grosse quantité de microbes.

Les chenilles d'*Eriogaster lanestris* s'infectent assez facilement ; celles de *Vanessa urticae*, sont également sensibles à l'infection.

2° — Cas du Bac. melolonthæ non liquefaciens γ .

A. — Action pathogène sur chenilles d'*E. chrysorrhæa*.

Première Expérience. — Quatre chenilles sont inoculées le 11 mai avec une culture de quatre mois. Après vingt-trois heures, l'aspect du sang est le suivant :

a) Bacilles libres assez nombreux ; 30 % environ transformés en granules dont quelques-uns sont plus ou moins déformés ; phagocytose d'intensité moyenne s'exerçant principalement sur les granules (la proportion des granules intraprotoplasmiques est de 50 % environ) ;

b) Bacilles libres aussi nombreux que dans le sang de la première chenille ; 10 à 15 % de granules, quelques-uns en voie de bactériolyse. Phagocytose moins intense ;

c et d) Infection généralisée ; très rares granules.

Après quarante-six heures, les deux premières chenilles peuvent être considérées comme immunisées. Dans le sang de la première, on ne trouve plus ni Bacilles, ni granules ; même dans les micronucléocytes, les uns et les autres sont à peu près tous disparus. Dans le sang de l'autre chenille, on trouve encore quelques rares Bacilles libres et une proportion plus forte de granules de toutes grosseurs ; les micronucléocytes renferment surtout des granules.

En résumé, l'immunité des deux chenilles d'*Euproctis* a pour cause principale l'action bactéricide du sang sur les Bacilles. Cette action est beaucoup moins rapide et moins intense que dans le cas du *B. melolonthæ non liquefaciens* α ; aussi l'immunité est-elle plus longue à s'établir.

Deuxième Expérience. — Trois chenilles d'*Euproctis* sont inoculées, le 1^{er} mai, avec une culture jeune. Après vingt-trois heures, deux des chenilles sont en état d'infection avancée ; tandis que dans le sang de l'une on ne trouve qu'une proportion insignifiante de granules, dans celui de la deuxième, cette proportion atteint 30 % environ et dans les micronucléocytes, elle dépasse 80 %. Le sang de la troisième chenille est pauvre en Bacilles et granules ; dans les micronucléocytes, on rencontre surtout des granules.

Troisième Expérience. — Une chenille d'*Euproctis* est inoculée une première fois le 11 mai, à 19 heures 1/4, avec une culture du 13 avril chauffée deux heures à 55° ; une deuxième fois, le 13 à 9 heures 1/4, avec la même culture du 13 avril non chauffée.

Jusqu'à la cinquième heure, on n'observe pas de changement sensible dans l'aspect du sang ; les Bacilles libres, relativement nombreux, paraissent toujours à l'état de repos ; pas de réaction humorale ni de phagocytose.

Après neuf heures, la plus grande partie des microbes en suspension dans le sang sont transformés en granules dont beaucoup sont très petits et à peine visibles (en voie de bactériolyse) ; phagocytose très faible.

Après douze heures, on rencontre encore quelques rares Bacilles libres et granules ; dans les micronucléocytes, on ne trouve que des granules mais en très petit nombre.

Après vingt-trois heures, le sang ne renferme plus qu'un très petit nombre de granules libres.

Quatrième Expérience. — Une chenille d'*Euproctis* est inoculée une première fois le 11 juin, à 19 heures 15, avec l'émulsion chauffée ayant servi pour l'expérience précédente, puis une deuxième fois le 13, à 14 heures, avec le sang d'une chenille en état d'infection.

Déjà après une heure, on observe la présence de quelques granules en suspension dans le sang (proportion de 5 % environ) ; les Bacilles libres sont nombreux et l'aspect du sang est celui du sang d'une chenille en état d'infection avancée. La phagocytose est peu active.

Après quatre heures, près de la moitié des Bacilles sont transformés en granules ; la réaction de phagocytose est toujours peu active.

Après sept heures, le processus réactionnel est très avancé : on ne trouve plus dans le sang, qu'un très petit nombre de Bacilles non transformés et de granules dont la plus grande partie sont en voie de bactériolyse ; l'intensité de la réaction de phagocytose est plus grande que dans l'expérience précédente ; les granules intraprotoplasmiques sont beaucoup plus abondants que les Bacilles.

Après dix-huit heures, on ne trouve plus ni Bacilles libres, ni granules.

Cinquième Expérience. — Deux chenilles d'*Euproctis* sont inoculées le 11 juin, avec l'émulsion chauffée utilisée pour les expériences précédentes ; elles sont réinoculées trois jours après avec une culture de vingt-quatre heures.

L'une des deux chenilles se comporte comme une chenille neuve ; après douze heures, les Bacilles libres sont en voie de multiplication active ; la granulose est faible (15% environ de granules) ; l'autre chenille résiste mieux à l'infection, mais la réaction humorale n'est pas aussi intense que dans le sang des chenilles réinoculées au bout de 48 heures ; l'immunisation des chenilles contre le *B. melolonthæ non liquefaciens* γ paraît donc assez peu stable ; d'un autre côté, le processus réactionnel qui se déroule dans le sang des chenilles immunisées, diffère essentiellement par la longueur, de ceux que nous avons décrits précédemment en étudiant l'immunité des chenilles d'*Agrotis* contre les Bacilles α et ϵ .

B. — Action pathogène sur chenilles de *L. dispar*.

Une chenille adulte est inoculée, le 10 juillet, avec une culture de vingt-quatre heures et abandonnée à la température du laboratoire (19° environ). Après deux heures, le sang présente l'aspect suivant : nombreux Bacilles libres ; quelques granules ; phagocytose assez intense.

Après quatorze heures, l'aspect du sang est complètement changé : Bacilles libres rares, quelques granules ; dans les micronucléocytes, nombreux Bacilles et granules.

Le processus réactionnel est sensiblement moins long que dans le sang des chenilles d'*Euproctis*.

Deuxième Expérience. — Deux chenilles adultes sont inoculées une première fois le 10 juillet, avec une culture de un mois, une deuxième fois, vingt-quatre heures après, avec une culture de deux jours.

Après vingt minutes, l'aspect du sang de chacune des chenilles, est semblable à celui du sang d'une chenille en état d'infection avancée. Mais on observe déjà la présence de nombreux granules. Les micronucléocytes renferment de nombreux granules provenant de la première inoculation.

Une heure après l'inoculation, le nombre des Bacilles libres est sensiblement diminué, celui des granules paraît stationnaire ; mais la phagocytose s'exerce principalement sur les granules, on peut donc conclure que le processus réactionnel humoral continue de se dérouler dans le sang et que la granulose ne subit pas de temps d'arrêt.

Après trois heures, on ne rencontre plus, dans le sang des deux chenilles, qu'un nombre insignifiant de Bacilles non transformés et de granules. Les micronucléocytes sont bourrés principalement de granules dont beaucoup sont en voie de disparition comme dans le sang.

Dix-sept heures après l'inoculation, on trouve encore des Bacilles non transformés dans l'intérieur des micronucléocytes ; ce fait prouve que la transformation en granules ne peut se produire que dans le sang ; nous avons déjà fait de semblables constatations en étudiant le mécanisme des réactions humérales ; nous avons montré aussi que la digestion intracellulaire des microbes phagocytés, ne présentait aucun rapport avec la bactériolyse observée dans le sang.

Troisième Expérience. — Les deux chenilles de l'expérience précédente sont inoculées pour la troisième fois, le 12, avec la culture employée la veille. Le même processus réactionnel décrit plus haut, se déroule d'abord dans le sang de chacune des deux chenilles ; mais vers la cinquième heure, on observe, dans le sang de l'une d'elles, une reprise de l'infection. Après dix-sept heures, on constate la présence de nombreux granules dont beaucoup sont plus gros que les granules normaux. Le processus réactionnel comporte donc plusieurs phases : d'abord granulose et bactériolyse ; puis, multiplication des Bacilles et suspension de la réaction ; enfin, nouvelle granulose, mais non suivie de bactériolyse immédiate.

Dans le sang de l'autre chenille, le processus réactionnel se déroule normalement et la destruction des Bacilles est rapidement totale.

C. — **Action pathogène sur chenilles de *Vanessa polychloros*.**

Première Expérience. — Une chenille adulte est inoculée le 21 mai, avec une culture du 15. Le sang est examiné après une heure, une heure et demie, deux heures, trois heures, quatre heures, cinq heures et demie, seize heures ; au cours de ces différents examens, on n'observe pas la formation de granules ; les Bacilles se multiplient normalement et l'infection progresse rapidement, à peine entravée par la phagocytose qui est relativement peu intense.

Deuxième Expérience. — Une chenille de Vanesse est inoculée une première fois le 18 mai, avec une culture chauffée, puis une deuxième fois le 21, avec une culture du 13 mai. Le sang de la chenille est examiné après les mêmes intervalles de temps que celui de la chenille précédente.

La transformation en granules commence vers la deuxième heure et se poursuit ensuite lentement ; mais on constate un ralentissement très marqué dans le développement du Bacille, ce qui facilite la réaction bactériolytique ; la réaction de phagocytose est faible, seize heures après l'inoculation, le sang renferme encore quelques Bacilles et granules ; la réaction peut être considérée comme presque terminée.

Troisième Expérience. — Une chenille de Vanesse est inoculée le 23 mai, deux jours et demie après l'injection de Bacilles tués par chauffage, avec une culture du 13 mai.

La granulose commence aussi vers la deuxième heure et se poursuit comme dans l'expérience précédente. On observe aussi que les microbes subissent un arrêt dans leur développement ; la phagocytose est relativement forte, mais elle est impuissante à faire disparaître les microbes : on ne constate pas, en effet, pendant les premières heures qui suivent l'inoculation, de diminution sensible du nombre des Bacilles et granules.

Les chenilles de *Vanessa urticæ*, *Eriogaster lanestris*, sont sensibles à l'infection et on n'observe aucune réaction de défense importante dans leur sang.

3° — Cas du *B. melolonthæ non liquefaciens* α.

Nous avons déjà longuement étudié le mécanisme de l'immunité des chenilles d'*Agrotis pronubana* contre ce Bacille ; nous avons montré que la différence de réceptivité présentée par ces chenilles et celles d'*A. segetum* avait pour unique cause, l'absence de réactions humorales, dans le sang de ces dernières.

Beaucoup d'autres chenilles s'infectent après inoculation d'une faible dose de microbes ; par exemple, celles d'*E. chrysorrhœa*, *Vanessa urticæ*, *V. polychloros*, *Pieris brassicæ*, etc. Toutes phagocytent plus ou moins les Bacilles, mais aucune ne les détruit en dehors des micronucléocytes. Les chenilles de *L. dispar*, par contre, offrent une résistance remarquable à l'infection, ainsi qu'il résulte des expériences suivantes :

Première Expérience. — Quatre chenilles adultes sont inoculées, le 2 juillet, avec une culture de huit jours. Toutes quatre résistent à l'infection ; quarante-sept heures après l'inoculation, on ne trouve aucune trace de Bacilles dans le sang. Dans quelques micronucléocytes, on observe la présence d'un petit nombre de gros granules provenant de la transformation de Bacilles dans le sang.

Deuxième Expérience. — Six chenilles sont inoculées, le 22 juillet ; avec une culture de deux jours. Le sang de chacune, examiné quarante-huit heures après l'inoculation, présente l'aspect suivant :

1. Quelques granules présentant l'aspect de Cocci, fortement colorés et de forme très régulière ; rares masses libres ou phagocytées, phagocytose faible ;

2. 3. et 4. — Aspect du sang, normal; quelques granules intraprotoplasmiques dans un certain nombre de micronucléocytes ;

5. Très nombreux Bacilles et granules, ceux-ci dans la proportion de 50 % environ ; phagocytose intense s'exerçant principalement sur les granules ;

6. Rares Bacilles et granules.

Troisième Expérience. — Quatre chenilles sont inoculées le 6 juillet avec une culture du 28 juin ;

Après dix-sept heures, on observe, dans le sang de la première chenille, des granules libres et de petites masses bactériennes assez nombreuses. les Bacilles non transformés sont relativement peu nombreux ; phagocytose peu intense s'exerçant surtout sur les granules et les masses bactériennes ; les granules et masses bactériennes sont plus nombreuses dans le sang de la deuxième chenille ; les Bacilles non transformés sont rares ; Dans le sang de la troisième chenille, les Bacilles normaux sont très nombreux, les granules, relativement rares ; dans le sang de la quatrième, majorité de petits granules libres.

Après vingt-cinq heures, on note un accroissement sensible du nombre des Bacilles normaux dans le sang des quatre chenilles ; on observe aussi que les granules sont plus gros dans celui de la quatrième.

En résumé la présence de *B. melolonthæ non liquefaciens* α dans l'organisme des chenilles de *L. dispar*, a pour conséquence, le déclenchement d'un processus réactionnel humoral, impuissant quelquefois à enrayer l'infection. Cependant on peut considérer que la cause principale de l'immunité de ces chenilles contre le Bacille, est de nature humorale.

3° — Cas du *B. bombycis non liquefaciens*.

Action pathogène sur chenilles d'*Euproctis chrysorrhæa*.

Première Expérience. — Quatre chenilles sont inoculées le 7 mai, avec une culture du 13 avril, puis abandonnées à la température de 15°.

Après vingt heures et demie, on observe la présence de quelques Bacilles normaux en suspension dans le sang de la première chenille ; beaucoup sont phagocytés ; on ne rencontre aucun granule ni dans le sang, ni dans les micronucléocytes ;

Après vingt-cinq heures et demie, augmentation notable du nombre des Bacilles libres ; présence de quelques granules libres et phagocytés ;

Après vingt-six heures et demie, la proportion des granules libres est augmentée ; quelques uns sont en voie de grossissement ; phagocytose plus intense des granules.

Après quarante-trois heures, l'aspect du sang est le suivant : assez nombreux granules libres en voie de bactériolyse (aspect de plaques mal colorées à bords non définis) ; beaucoup sont phagocytés ; très rares Bacilles libres.

Le processus réactionnel, dans le sang de la deuxième chenille, est le suivant : après vingt heures et demie, rares Bacilles libres et granules ; phagocytose faible ; après vingt-cinq heures et demie, surtout microbes et granules phagocytés. Réaction terminée quarante-trois heures après l'inoculation. Le processus réactionnel com-

mence donc plus tôt que dans le sang de la première chenille ; l'immunité est ainsi plus rapidement et plus complètement assurée.

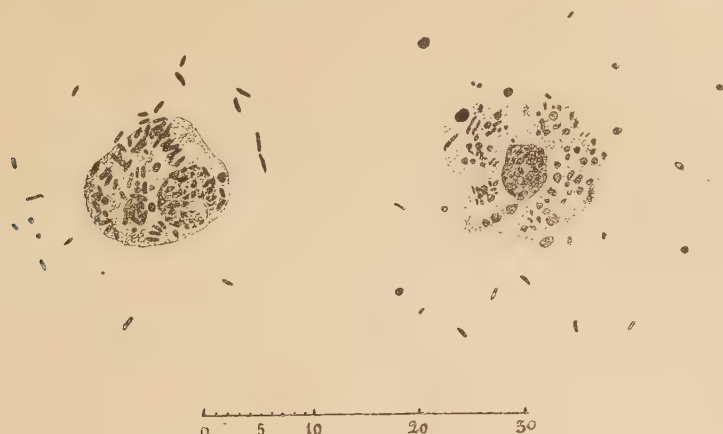


Fig. 88.

Le sang de la troisième chenille renferme encore de nombreux Bacilles libres, vingt heures et demie après l'inoculation ; la proportion des granules, est de 25 % environ ; phagocytose intense ; la proportion des granules phagocytés est plus élevée que celle des granules libres (50 % environ ; fig. 88, à gauche).

Après vingt-cinq heures et demie, le nombre des éléments microbiens en suspension dans le sang, ne paraît pas diminué, mais la proportion des granules est beaucoup plus élevée (elle dépasse 50 % ; quelques-uns sont en voie de grossissement ; fig. 88, à droite).

Après vingt-six heures et demie, la proportion des granules atteint 75 %, phagocytose intense ; la plupart des micronucléocytes sont remplis de granules.

Après quarante-trois heures, la réaction est très avancée ; très rares Bacilles libres ; quelques granules, dont un certain nombre sont en voie de bactériolyse et apparaissent sur frottis colorés, sous forme de petites plages mal colorées et à bords indécis. (Fig. 89.)

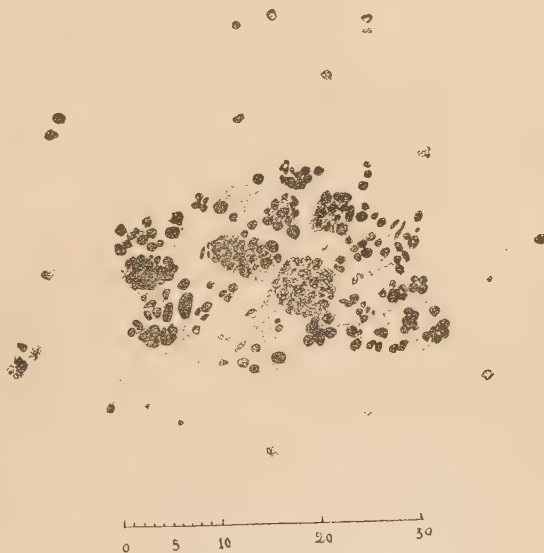


Fig. 89.

Le processus réactionnel, dans le sang de la dernière chenille, se déroule comme dans celui de la deuxième.

En résumé, les chenilles d'*Euproctis* se montrent assez peu sensibles à l'infec-

tion par le *B. bombycis non liquefaciens*, et cependant, le processus réactionnel, qui est surtout humoral, commence beaucoup plus tard que dans la plupart des cas étudiés jusqu'à maintenant. Les mêmes conclusions se dégagent de l'expérience suivante :

Troisième Expérience. — Six chenilles sont inoculées le 8 mai avec une culture du 13 avril.

Deux des chenilles s'infectent sans réagir ; une autre s'infecte aussi, mais beaucoup plus difficilement et non sans avoir fortement réagi : ainsi, vingt-trois heures après l'inoculation, les Bacilles libres sont nombreux dans le sang alors que la proportion des granules atteint à peine le taux de 5 0/0 ; dans les micronucléocytes, le taux dépasse 25 % après vingt-cinq heures, la proportion des granules est de 10 % environ, mais le nombre des Bacilles normaux est toujours aussi élevé ; cette proportion monte encore par la suite et atteint 50 % environ après quarante et une heures, mais la chenille finit par succomber à l'infection.

Dans le sang des trois autres chenilles, le processus réactionnel commence relativement tôt ; vingt-trois heures après l'inoculation, les Bacilles libres sont peu nombreux, la proportion des granules est de 75 à 80 % ; après quarante et une heures, on ne trouve plus ni Bacilles ni granules dans le sang.

4° — Cas du *B. pieris non liquefaciens* α.

Nous avons déjà longuement étudié l'immunité des chenilles de *L. dispar* contre ce Bacille. Les chenilles d'*Euproctis chrysorrhœa* réagissent aussi plus ou moins fortement à l'infection, mais s'immunisent assez difficilement, même après inoculation de vieilles cultures ou de Bacilles tués par la chaleur.

Première Expérience. — Quatre chenilles d'*Euproctis* sont inoculées le 11 mai avec une culture du 17 janvier. Vingt-trois heures après l'inoculation, l'aspect du sang de chaque chenille est le suivant :

1. Rares Bacilles libres et granules ; phagocytose faible ;
2. Quelques granules libres ; plus nombreux granules phagocytés ; rares Bacilles normaux libres et phagocytés ;
3. Pas de Bacilles ni granules ;
4. Rares Bacilles normaux ; quelques granules libres, nombreux granules phagocytés.

Deuxième Expérience. — Une chenille d'*Euproctis* est inoculée une première fois le 11 mai, à 19 heures 1/4, avec une culture du 13 avril chauffée deux heures à 53° ; une deuxième fois, le 13 mai, à 9 heures 1/4, avec une culture non chauffée.

Trente minutes après l'inoculation, on trouve déjà des granules dans le sang ; après une heure, la proportion de ceux-ci atteint le taux de 50 % ; phagocytose faible, s'exerçant sur tout sur les granules ; à partir de ce moment, la granulose subit un temps d'arrêt ; les Bacilles se multiplient assez rapidement.

Neuf heures après l'inoculation, on constate que la granulose est en reprise ; la phagocytose est aussi plus intense, non que l'énergie phagocytaire soit augmentée, (nous avons déjà montré que les phagocytes ne pouvaient guère modifier leur aptitude

à englober les microbes) mais parce que le nombre des microbes en suspension dans le sang est en augmentation sensible et que les granules, plus phagocytibles que les Bacilles, sont aussi plus nombreux.

Après douze heures, la proportion des granules est de 75 % environ ; aucun d'eux ne paraît en voie de bactériolyse ; les micronucléocytes apparaissent généralement bourrés de Bacilles et de granules. Malgré l'intensité assez forte des réactions humorale et cellulaire, l'infection finit par triompher.

Troisième Expérience. — Quatre chenilles sont inoculées une première fois, le 11 mai, avec une culture du 17 janvier ; une deuxième fois, le 14, avec une culture de 24 heures ;

Après quarante-cinq minutes, la proportion des granules est faible, dans le sang de trois des chenilles ; elle atteint 25 % dans celui de la dernière ; en même temps, on observe que la phagocytose n'est commencée que dans le sang de cette chenille et qu'elle se manifeste seulement sur les granules.

Après douze heures, l'aspect du sang est le suivant :

1. Proportion très élevée de granules (90 % environ) ; phagocytose intense ; infection en décroissance ;

2. 75 % environ de granules ; phagocytose assez intense ; l'infection semble en décroissance ;

3. 10 % seulement de granules ; infection généralisée ;

4. 80 % de granules ; malgré l'intensité de la réaction humorale, l'infection progresse lentement, et la chenille succombe finalement.

Les chenilles de *Pieris brassicae* s'infectent rapidement après inoculation d'une faible quantité de Bacilles ; celles de *Vanessa polychloros* sont moins sensibles ; elles réagissent par transformation des Bacilles en granules ; mais la réaction est rarement complète.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Ainsi que nous le disions dans l'introduction, notre travail ne peut être considéré comme une œuvre d'ensemble sur la question de la pathologie infectieuse chez les Insectes, ni même comme une mise au point définitive de la méthode d'utilisation des auxiliaires microbiens dans la lutte contre les Insectes nuisibles.

Nous avons, en effet, posé beaucoup plus de questions que nous n'en avons résolues, mais nous espérons que ce ne sera pas un des moindres résultats de notre travail, d'avoir donné une idée de l'immensité de la tâche à accomplir et souligné l'intérêt qui s'attachait à l'étude approfondie du parasitisme microbien chez les Invertébrés en général, et les Insectes en particulier. Lorsqu'on connaîtra mieux ce champ à peine exploré, il ne restera peut-être que bien peu des hypothèses que nous avons dû formuler pour expliquer des faits qui ne paraissent avoir aucun rapport avec eux que l'on observe chez les Vertébrés, mais peut-être aussi les plus classiques en subiront-elles plus ou moins le contre-coup.

Nous avons consacré une grande partie de notre travail, à l'étude des réactions

d'immunité et cependant, nous n'avons pas réussi à ébaucher une théorie simple expliquant le mécanisme général des diverses réactions qui ont pour siège le sang des Insectes en état d'infection. Nous aurions pu adopter la théorie classique des anticorps, qui permet d'expliquer très simplement les processus réactionnels humoraux chez les Vertébrés, mais elle n'est pas d'accord avec les faits, chez les Insectes. Nous avons mis en évidence les profondes divergences qui paraissent séparer les réactions observées chez les uns et les autres ; mais peut-être s'agit-il simplement de divergences dans l'interprétation de faits, et non de faits même divergents. De même, en effet, que les phénomènes physiologiques généraux comme la digestion, l'assimilation, présentent un ensemble de caractères communs dans la série animale, de même semble-t-il, les relations entre hôtes et parasites microbiens sont-elles régies par des lois générales communes à tous les êtres.

On comprend, dès lors, l'intérêt qui s'attache à l'étude comparée des manifestations du parasitisme microbien dans toute la série animale. Cette étude n'a pas encore été faite ; les traités les plus récents sur l'immunité, celui de BORDET par exemple, en font à peine mention ; on est donc loin de la considérer comme une science véritable, possédant ses méthodes d'investigation particulières au même titre que les autres sciences comparées. Notre conviction, basée sur les résultats de nos recherches, est que cette science, qu'on pourrait appeler l'*Immunologie comparée*, est appelée à modifier profondément notre conception actuelle de l'immunité ; elle est susceptible aussi d'ouvrir des horizons nouveaux et d'orienter les recherches dans de nouvelles directions.

Nous résumerons brièvement les principales conclusions de nos recherches ; en nous efforçant de mettre en évidence les résultats les plus saillants auxquels nous sommes parvenus.

1° La flore microbienne des Insectes ne le cède en rien, pour la richesse et la variété, à celle des animaux les mieux organisés ;

2° Les espèces parasites d'un Insecte déterminé, varient dans le temps et dans l'espace ; les plus répandues appartiennent au groupe des Coccobacilles ;

3° Notre systématique des microbes entomophytes ne peut être considérée comme définitive, en raison de l'insuffisance actuelle des bases de classification rationnelle ;

4° L'étude cytologique des microbes normaux et anormaux (formes de croissance principalement) permet de conclure à la présence d'un système nucléaire différencié, plus ou moins polymorphe ;

5° Les microbes entomophytes présentent des cas fréquents de variabilité et de polymorphisme ;

6° La virulence de ces microbes pour les Insectes ne s'accroît pas régulièrement après chaque passage successif par le même hôte : elle est fonction de facteurs individuels mal connus qui présentent de grandes variations d'un individu à un autre ;

7° La contamination *per os* ne peut être réalisée, même avec les espèces les plus virulentes, dans les conditions ordinaires du laboratoire et à plus forte raison,

dans la nature ; aussi doit-on considérer la création d'épidémies artificielles comme une impossibilité technique, dans l'état actuel de nos connaissances ;

8° La forme ordinaire de l'infection, chez les Insectes, est la septicémie ; la mort survient lorsque les Bactéries pullulent dans tous les tissus ; le rôle morbide des toxines microbiennes, peut être considéré comme négligeable ;

9° L'immunité antimicrobienne naturelle est à la fois cellulaire et humorale, mais le rôle du sang paraît beaucoup plus important que celui des cellules ;

L'étude expérimentale à laquelle nous nous sommes livré pour déterminer l'importance respective du rôle des cellules et du sang dans l'immunité antimicrobienne chez les Insectes, aboutit à cette conclusion que la défense d'un Insecte est généralement mieux assurée par l'action bactéricide du sang, que par l'action phagocytaire de certains de ses éléments. Loin de nous, cependant, la pensée de nier l'importance de la réaction de phagocytose dans l'immunité et de ressusciter la vieille querelle qui mit aux prises partisans et adversaires de la théorie cellulaire de l'immunité ; mais nous ne croyons pas faire œuvre de doctinaire en exprimant une opinion qui ne fait que traduire l'impression qui se dégage de faits expérimentaux indiscutables.

Dans les cas d'immunité les plus typiques que nous avons étudiés, le rôle de la phagocytose apparaît très nettement inférieur à celui des réactions humérales. Il n'y a d'exception que pour l'immunité contre le *Bacillus liparis*, immunité exclusivement assurée, dans la plupart des Insectes inoculés, par l'action phagocytaire des éléments cellulaires du sang. Dans beaucoup de cas, la réaction de phagocytose apparaît même subordonnée assez étroitement à l'action bactéricide du sang sur les microbes ; ainsi, il n'est pas rare, et nous en avons cité plusieurs exemples au cours de notre étude, de constater l'augmentation d'intensité de cette réaction à partir du moment où commence à se manifester l'action bactéricide du sang (transformation des Bacilles en granules).

Pour résumer notre opinion sur le rôle des cellules et des humeurs, nous dirons que la phagocytose ne peut être considérée, chez les Insectes, comme le véritable « pivot de l'immunité antimicrobienne naturelle » ; réduite à elle-même, cette réaction est impuissante, le plus souvent, à enrayer l'infection ; dans la nature, elle accompagne généralement les réactions humérales ; son rôle peut être assimilé à un rôle de soutien.

10° Le processus phagocytaire ressemble, dans ses grandes lignes, à celui qui se déroule dans l'organisme des Vertébrés ; cependant, l'englobement des microbes par les éléments phagocytants du sang, ne résulte pas d'un déplacement amiboïde de ces éléments, suivi de préhension par les pseudopodes : le phénomène peut être considéré comme passif et de nature essentiellement physico-chimique, jusqu'au moment où les microbes subissent l'influence digestive des ferments cellulaires ; à partir de ce moment, la phagocytose entre dans la phase vitale ; dans certains cas, celui du *Bacillus liparis* par exemple, cette phase de la réaction peut faire à peu près complètement défaut ;

11° Le tableau biologique qui caractérise l'immunité (*sensu lato*) comprend la

réaction de caryocinétose ; cette réaction ne peut être considérée, cependant, comme une véritable réaction de défense ;

12° Les processus réactionnels humoraux qui se déroulent dans le sang des Insectes, ne sont pas tous du même type ; d'autre part, ils paraissent très différents de ceux qui se déroulent dans l'organisme des Vertébrés supérieurs ;

13° Le mécanisme des diverses réactions humorales provoquées par les microbes entomophytes que nous avons isolés, peut s'expliquer sans qu'il soit nécessaire de faire intervenir des anticorps de nature cellulaire ; l'action bactéricide du sang (le mot bactéricide étant pris dans son sens le plus large) paraît avoir pour causes directes, des modifications dans la composition physico-chimique de ce milieu et des modifications concomittantes dans celle de la substance bactérienne ;

14° L'immunisation des Insectes est possible, seulement dans les cas où le microbe contre lequel on veut immuniser ces Insectes, subit l'influence bactéricide du sang au cours de la première inoculation (transformation en granules et bactériolyse). Les méthodes employées pour immuniser les Insectes, sont analogues à celles qu'on emploie chez les Vertébrés supérieurs ; l'immunisation est obtenue beaucoup plus rapidement, mais elle disparaît aussi plus vite ; elle ne résulte pas de la mise en liberté, dans le sang, d'un principe bactériolytique, mais paraît avoir pour cause les modifications physico-chimiques de la composition du sang et de la substance bactérienne.

15° L'immunisation est spécifique comme chez les Vertébrés.

(Mémoire déposé en avril 1922.)

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Description de microbes entomophytes nouveaux. Epidémies naturelles.

- CHATTON (E.). — Septicémies spontanées à Coccobacilles chez le Hanneton et le Ver à soie. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 156, p. 1707, 1913.)
- Recherches sur l'action pathogène de divers Coccobacilles sur le Hanneton, le Ver à soie, la Cochyliis et l'Endémis. (*Ann. Serv. Epiph.*, I, p. 279-391, 1913.)
- DUFRESNOY (J.). — Les formes de dégénérescence des chenilles de *Cnethocampa pilyocampa* parasitées. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXII, p. 288-289, 1919.)
- GLASER (R.-W.). — A Systematic Study of the Organisms distributed under Name of *Coccobacillus acridiorum* d'Hérèlle. (*Ann. Entom. Soc. Americ*, Columbus, Ohio, XI, p. 19-42, 1918.)
- A New Bacterial Disease of Gipsy Moth Caterpillars. (*Jl. Agr. Research*, Washington, D. C., XIII, p. 515-522, I pl., 1918.)
- HOLLANDE (A.-CH.) et VERNIER (P.). — *Coccobacillus insectorum* n. sp. variété *malacosomæ*, bacille pathogène du sang de la chenille de *Malacosoma castrensis* L. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 171, p. 206, 1920.)
- KRASSILTSCHIK (J.). — La Graphitose et la Septicémie chez les Insectes. (*Mémoires de la Société zool. de France*, VI, p. 245-285, 1893.)
- NORTHROP (Z.). — A bacterial Disease of the June Beetles, *Lachnosterna* sp. (*Centbl. f. Bakt. Parasit. u. infekt.*, Jena, XLI, p. 321-339, 5 fig., 1914.)
- PAILLOT (A.). — Coccobacilles parasites d'Insectes. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 157, p. 608, 1913.)
- Les Microorganismes parasites des Insectes. Leur emploi en Agriculture. (*Ann. Serv. Epiph.*, II, p. 188-232, 1915.)
- Existence de plusieurs variétés et races de Coccobacilles dans les Septicémies naturelles du Hanneton. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 163, p. 531, 1916.)
- Les Coccobacilles du Hanneton. Action pathogène sur quelques chenilles de Macrolépidoptères. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXIX, p. 1102, 1916.)
- Microbes nouveaux parasites des chenilles de *Lymantria dispar*. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 164, p. 525, 1917.)
- Microbes nouveaux parasites du Hanneton. Action pathogène sur chenilles de *Vanessa urticæ*, *Lymantria dispar* et sur Vers à soie. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXX, p. 56, 1917.)
- Microbes nouveaux parasites du Hanneton. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 167, p. 1046, 1918.)
- Contribution à l'étude des parasites microbiens des Insectes. Etude de *Bacillus hoplosternus* Paillot. (*Ann. Inst. Past.*, Paris, XXXIII, p. 403-419, 1919.)
- La Pseudograsserie, maladie nouvelle des chenilles de *Lymantria dispar*. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 168, p. 258, 1919.)
- Sur une réaction des micronucléocytes des chenilles d'*Euproctis chrysorrhæa*, contaminées par le *B. melolonthæ liquefaciens* γ. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 615, 1920.)
- Sur *Coccobacillus insectorum* Hollande et Vernier. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 171, p. 442, 1920.)
- PICARD (F.) et BLANC (G.-R.). — Les infections à Coccobacilles chez les Insectes. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 157, p. 79, 1913.)
- Sur une Septicémie bacillaire des chenilles d'*Arctia caja* L. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 156, p. 1334, 1913.)

Morphologie.

- AMATO (A.). — Ueber die feine Struktur der Bakterien. (*Centbl. f. Bakt.*, XLVIII, I Abt. Or., p. 385-393, 1908-1909, 2 Pl.)

- AMBROZ (A.). — Entwicklungszyklus des *B. nitri* sp. n. Beitrag zur Cytologie der Bakterien. (*Centbl. f. Bakt.*, LI, I Abt. Or., p. 193-216, 1909, 12 Pl.)
- DOBELL (C.). — Contribution to the Cytology of the Bacteria. (*The Quarterly Jl. of Micr. Sc.*, LVI, p. 395-506, 1911.)
- GUILLIERMOND (A.). — La Cytologie des Bactéries. Revue. (*Bull. Inst. Past.*, Paris, p. 273-283 et 321-331, 1907). Bibliographie, jusqu'à cette date, des travaux relatifs à la structure des Bactéries.
- PAILLOT (A.). — Sur le Polymorphisme des Bactéries. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 170, p. 904, 1920.)
- PÉNAU (H.). — Contribution à la Cytologie de quelques microorganismes. (Thèse, Paris, 1911.) Bibliographie sur la structure des Bactéries.
- PETIT (A.). — Sur la Cytologie de deux Bactéries. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 173, p. 1480, 1921.)
- SWELLENGREBELL (N.-H.). — Sur la Cytologie comparée des Spirochètes et des Spirilles. (*Ann. Inst. Past.*, Paris, XXI, p. 448-465 et 562-586, 1907, 2 Pl.)

Cytologie du sang des Insectes.

- CUÉNOT (L.). — Etudes physiologiques sur les Orthoptères. (*Arch. biol.*, XIV, p. 293-341, 1895, 2 Pl.)
- Les globules sanguins et les organes lymphoïdes des Invertébrés. (*Arch. anat. micr.*, I, 1897.)
- HOLLANDE (A.-Ch.). — Etude histologique comparée du sang des Insectes à hémorrhée et des Insectes sans hémorrhée. (*Arch. Zool. exp. et génér.*, VI, 5^e série, p. 283-323, 1911.)
- Contribution à l'étude du sang des Coléoptères. (*Arch. Zool. expér. et gén.*, II, 5^e série, 1909.)
- Œnocytoïdes et Tératocytes du sang des chenilles. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 170, p. 1341, 1920.)
- HUFNAGEL (A.). — Recherches histologiques sur la métamorphose d'un Lépidoptère (*Hyponomeuta padella* L.). (*Arch. Zool. exp. et génér.*, LVII, p. 47-202, 1918, 104 fig., 5 Pl.)
- KOLLMANN (M.). — Recherches sur les leucocytes et le tissu lymphoïde des Invertébrés (*Ann. Sc. nat. Zool.*, VIII, p. 1-240, 1908, 2 Pl.)
- POYARKOFF (E.). — Recherches histologiques sur la métamorphose d'un Coléoptère (La Galéruque de l'Orme). (*Arch. anat. micr.*, XII, p. 333-474, 1910.)
- PAILLOT (A.). — Cytologie du sang des chenilles de Macrolépidoptères. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 169, p. 202, 1919.)

Utilisation en Agriculture des Microbes entomophytes.

- BARBARA (B.). — Estado actual de los Estudios sobre el *Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle. (*Rev. Instit. Bacteriologico*, Buénos-Ayres, I, p. 107-113, 1917.)
- Valor del *Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle, para destruir la Langosta. (*Annales Soc. Rural Argentina*, Buénos-Ayres, LI, p. 385-387, 1917.)
- BARBER (M.-A.) et JONES (C.-R.). — A Test of *Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle, on Locusts in the Philippines. (*Philippine Jl. Sci.*, Manila, X, Sec. B., p. 163-176, 1915.)
- BÉGUET (M.), MUSSO (L.) et SERGENT (Et.). — Troisième campagne contre les Acridiens (*Schistocerca peregrina* Ol.) en Algérie au moyen du *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle. (*Bull. Soc. Path. exotique*, VIII, p. 634-637, 1915.)
- BÉGUET (M.). — Deuxième campagne contre les Sauterelles (*Stauronotus maroccanus* Thun.) en Algérie, au moyen du *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle. (*Ann. Inst. Past.*, Paris, XXIX, p. 520-536, 1915.)
- Quatrième campagne contre les Acridiens (*Schistocerca peregrina*) en Algérie, au moyen du *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle. (*Bull. Soc. Path. exotique*, Paris, IX, p. 679-682, 1916.)
- Campagne d'expérimentation de la méthode biologique contre les *Schistocerca peregrina* en Algérie, de décembre 1914 à juillet 1915, et en particulier dans la

- région de Barika (dép^t de Constantine). (*Ann. Inst. Past.*, Paris, XXX, p. 225-242, 1916.)
- CARLE (G.). — La lutte contre les Sauterelles. (*Bull. écon. de Madagascar et dépendances*, Tananarive, n^{os} 3-4, janvier 1915, p. 243-246.)
- GALLARDO (A.). — La destrucción de la Langosta por sus enemigos naturales. (*Ann. Mus. nac. Hist. nat.*, Buénos-Ayres, XXIII, p. 155-165, 1912.)
- D'HÉRELLE (F.). — Sur une épizootie de nature bactérienne sévissant sur les Sauterelles au Mexique. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 152, p. 1413, 1911.)
- Le Coccobacille des Sauterelles. (*Ann. Inst. Past.*, Paris, XXVIII, 1914.)
- Sur le procédé biologique de destruction des Sauterelles. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, CLXI, p. 503-505, 1915.)
- MC KILLOP (H.-T.) et GOUGH (L.-H.). — Report on the great Invasion of Locust in Egypt in 1915 and the Measures adopted to deal with it. (*Cairo. Govt. Press*, X, 72, p. 1, 1916.)
- KRAUS (R.). — Zur Frage der Bekämpfung der Heuschrecken mittels des *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle. (*Centralbl. f. Bakt., Paras, u. Infekt.* II Abt., 45, Band, p. 594-599, 1916.)
- LAINES (M.). — The most effective scientific means of combating the Grasshopper (*Revista Economica*, Tegucigalpa, Honduras, V, p. 268-270, 1916.)
- LOUNSBURY (C.-P.). — Locust Bacterial Disease. (*Agr. Jl. Union of South Africa*, V, p. 607-611, 1913.)
- MUSSO. — Campagne d'expérimentation de la méthode biologique contre les *Schistocerca peregrina*, dans la région de Bougzoul-Msiline, commune mixte de Boghari (dép^t d'Alger), mai-juin 1915. (*Ann. Inst. Past.*, Paris, XXX, p. 319-329, 1916.)
- MERESKOWSKY (S.-S.). — Zur Frage der Vertilgung der Wanderheuschrecken durch Kulturen des *Bacillus* d'Hérelle. (*Centralbl. f. Bakt., Paras, u. Infekt.*, II Abt., Bd II, n^o 1-8, 1914.)
- MORALES (D.). — Informe sobre el *Coccobacilo acridiorum* d'Hérelle. (Buénos-Ayres, 1913.)
- PANTANELLI. — Esperienze ed osservazioni sui principali sistemi di lotta contro li Cavalette. (*Staz. speriment. agrar. italiane*, LI, p. 245-305, 1918. Résumé in *Bull. Inst. Pasteur*, Paris, XVII, p. 344, 1919.)
- DU PORTE (E.-M.) a. VANDERLECK (J.). — Studies on *Coccobacillus acridiorum* d'Hérelle, and on certain Intestinal Organisms of Locusts. (*Annals Entom. Soc. America*, Columbus, Ohio, X, p. 47-62, 1917.)
- SERGEANT (ET.). — La lutte contre les Sauterelles; résultats des expériences de 1913. (*Bull. bi-mens. Off. Gouv. gén. Alg.*, Paris, XX, p. 26, 1914.)
- SERGEANT (ET.) et LHÉRITIER (A.). — Essai de destruction des Sauterelles en Algérie par le *Coccobacillus acridiorum*. (*Ann. Inst. Past.*, Paris, XXVIII, p. 408-419, 1914.)
- SERGEANT (ET.). — Campagne d'expérimentation de la méthode biologique contre les *Schistocerca peregrina* dans la vallée de la Haute-Tafna, commune mixte de Sebrou (dép^t d'Oran). Existence d'une épidémie autochtone vaccinante (mai, juin, juillet 1915). (*Ann. Inst. Past.*, Paris, XXX, p. 209-224, 1916.)
- VÉLU (H.) et BOUIN (A.). — Essais de destruction de *Schistocerca peregrina*, Ol., au Maroc, par l'emploi des cultures microbiennes. (*Coccobacillus acridiorum*, d'Hérelle.) (*Bull. Soc. Path. exotique*, Paris, VIII, p. 638-641, 1915.)
- Essais de destruction du *Schistocerca peregrina* au Maroc, par le *Coccobacillus acridiorum* du Dr d'Hérelle. (*Ann. Inst. Pasteur*, Paris, XXX, p. 389-421, 1916.)
- VÉLU (H.). — La lutte contre *Schistocerca peregrina* au Maroc en 1916, par la méthode biologique; deuxième campagne d'expérimentation. (*Bull. Soc. Path. exotique*, Paris, IX, p. 682-684, 1916.)
- La lutte contre les Acridiens au Maroc. Troisième campagne d'expérimentation de la méthode biologique. (*Bull. Soc. Path. exotique*, Paris, XII, p. 362, 1919.)
- Deuxième campagne d'expérimentation de la méthode d'Hérelle au Maroc contre *Schistocerca peregrina*, Ol. (*Ann. Inst. Pasteur*, Paris, p. 277-290, 1917.)

L'Immunité.

- ACHARD (CH.) et WEIL (EMILE-P.). — Le sang et les organes hématopoïétiques du Lapin, après l'injection intra-veineuse de collargol. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXII, p. 93, 1907.)
- BORDET (J.). — Traité de l'immunité dans les maladies infectieuses (720 p., Paris, 1920).
- DUSTIN (A.-P.). — Déclanchement expérimental d'une onde cinétique par injection intrapéritonéale de sérum. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXV, 1921.)
- DUSTIN (A.-P.) et CHAPEAUVILLE (M^{lle} J.). — Les caractères de l'onde cinétique déclanchée par une injection intrapéritonéale de peptone. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXVI, p. 509, 1922.)
- CANTACUZÈNE (J.). — Anticorps normaux et expérimentaux chez quelques Invertébrés marins. (*C. R. Soc. biol.*, LXXXII, p. 1087-108, 1919.)
- COMANDON (J.). — Mouvements des Leucocytes et quelques Tactismes étudiés à l'aide de l'enregistrement cinématographique. (*Ann. Inst. Past.*, Paris, XXXIV, p. 1-24, 1920.) (Bibliographie sur le mécanisme de la phagocytose.)
- GLASER (R.-W.). — On the Existence of Immunity Principles in Insectes. (*Psyche*, Boston, Mass., XXV, p. 39-46, 1918.)
- DE LAET (M.). — Production de Leucocytes polynucléés par des fragments de rate, cultivés *in-vitro*. (*Ann. Inst. Past.*, Paris, XXXIII, p. 807-816, 1919.)
- LEDINGHAM (J.-C.-G.). — The Influence of Temperature on Phagocytosis. (*Proceedings of the Royal Society of London*, LXXX, p. 188-195, 1908.)
- LEVADITI (C.) et MUTERMILCH (St.). — Mécanisme de la Phagocytose. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXVII, p. 1079-1081, 1910.)
- METALNIKOV (S.). — Contribution à l'étude de l'immunité de la Mite des ruches d'Abeilles (*Galleria mellonella*) vis à vis de l'infection tuberculeuse. (*Arch. sc. biol.*, St-Petersbourg, XII, p. 300-317, 1907, 2 Pl.)
- Recherches expérimentales sur les chenilles de *Galleria mellonella*. (*Arch. Zool. expér.*, VIII, IV^e série, p. 489-588, 1908.)
 - Immunité de la chenille contre divers microbes. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 119, 1920.)
 - L'immunité chez les Insectes. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 171, p. 757, 1920.)
 - Sur la digestion des Bacilles tuberculeux dans le corps des chenilles des Mites des Abeilles (*Galleria mellonella*). (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 214, 1920.)
 - Bacille dysentérique et Bactériophage de d'Hérelle, chez les chenilles de *Galleria mellonella*. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 667, 1920.)
 - Immunité naturelle et acquise des chenilles de *Galleria mellonella*. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 817, 1920.)
 - L'immunité naturelle et acquise chez la chenille de *Galleria mellonella* (premier mémoire). (*Ann. Inst. Past.*, Paris, XXXIV, p. 888-1009, 1920.)
 - L'immunité naturelle et acquise chez la chenille de *Galleria mellonella* (deuxième mémoire). (*Ann. Inst. Past.*, Paris, XXXV, p. 363-377, 1921.)
- MATALNIKOV (S.) et GASCHEN (H.). — Sur la rapidité d'immunisation chez la chenille de *Galleria*. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXV, p. 224, 1921.)
- Immunité et hypersensibilité chez la chenille. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 173, p. 336, 1921.)
- METALNIKOV (S.). — Les changements des éléments du sang de la chenille (*Galleria mellonella*) pendant l'immunisation. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXVI, p. 350, 1922.)
- METSCHNIKOFF (E.). — L'immunité dans les maladies infectieuses, Paris, 1901.)
- Sur l'état actuel de la question de l'immunité dans les maladies infectieuses. Conférence Nobel faite à Stockholm le 14 mai 1909. (*Bull. Inst. Past.*, Paris, VII, p. 545 et 593, 1909.)
- PAILLOT (A.). — La Caryocinétose; faits nouveaux et considérations générales. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 169, p. 740, 1919.)
- La Caryocinétose, nouvelle réaction d'immunité naturelle observée chez les chenilles de Macrolépidoptères. (*C. R. Ac. Sc.*, 169, p. 396, 1919.)

- PAULLOT (A.). — L'immunité naturelle chez les Insectes. Etude d'un cas d'immunité humorale. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 169, p. 1122, 1919.)
- La Phagocytose chez les Insectes. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 425, 1920.)
 - Sur la Caryocinétose et les réactions similaires chez les Vertébrés. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 427, 1920.)
 - L'immunité acquise chez les Insectes. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIII, p. 278, 1920.)
 - Mécanisme de l'immunité humorale chez les Insectes. (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, 172, p. 397, 1921.)
 - Contribution à l'étude de l'immunité humorale chez les Insectes. (*C. R. Ac. Sc.*, 172, p. 546, 1921.)
 - Influence de la température sur le mécanisme de l'immunité humorale chez les Insectes. (*C. R. Soc. biol.*, Paris, LXXXIV, p. 737, 1921.)
- ROUS (PEYTON) et JONES (F.-S.). — The Protection of pathogenic Microorganismus by living Tissue Cells. (*Jl. of exper. Med.*, XXIII, p. 601, 1916.)
-

EXPLICATION DES FIGURES

- FIG. 1. — *B. melolonthæ liquefaciens* α . Sang de Hanneton ordinaire en état d'infection avancée.
- FIG. 2. — *B. melolonthæ liquefaciens* γ . Sang de chenille d'*Euproctis chrysorrhœa* 24 h. après l'inoculation.
- FIG. 3. — *B. melolonthæ n. liquefaciens* α . Sang de Hanneton infecté.
- FIG. 4. — *B. melolonthæ n. liquefaciens* β . Sang de Hanneton infecté.
- FIG. 5. — *B. melolonthæ n. liquefaciens* γ . Sang de Hanneton infecté.
- FIG. 6. — *B. melolonthæ n. liquefaciens* ϵ . Sang de chenille d'*E. chrysorrhœa* en état d'infection; 23 heures après l'inoculation.
- FIG. 7. — *B. hoplosternus*. Bacilles sporulés et spores isolées.
- FIG. 8. — *Diplobacillus melolonthæ*. Sang de Hanneton en état d'infection.
- FIG. 9. — *Diplococcus melolonthæ*. Sang de Hanneton en état d'infection.
- FIG. 10. — *B. lymantriæ* β . Sang de chenille de *L. dispar* en état d'infection.
- FIG. 11. — *Diplococcus liparis*. Sang de chenille de *L. dispar* en état d'infection.
- FIG. 12. — *B. liparis*. Sang de chenille de *L. dispar* 26 heures après l'inoculation.
- FIG. 13. — *B. pieris fluorescens*. Sang de chenille de *P. brassicæ* en état d'infection avancée.
- FIG. 14. — *B. pieris liquefaciens* α . Sang de chenille d'*E. chrysorrhœa* en état d'infection.
- FIG. 15. — *B. pieris liquefaciens* β . Sang de chenille de *P. brassicæ* en état d'infection.
- FIG. 16. — *B. pieris non liquefaciens* α . Sang de chenille de *P. brassicæ* en état d'infection.
- FIG. 17. — *B. pieris non liquefaciens* β . Sang de chenille de *P. brassicæ* en état d'infection.
- FIG. 18. — *B. pieris agilis*. Sang de chenille de *P. brassicæ* en état d'infection.
- FIG. 19. — *Diplococcus pieris*. Sang de chenille de *P. brassicæ* en état d'infection.
- FIG. 20. — *Diplobacillus pieris*. Sang de chenille de *P. brassicæ* en état d'infection.
- FIG. 21. — *B. bombycis non liquefaciens*. Sang de chenille d'*E. chrysorrhœa*.
- FIG. 22. — *B. pieris liquefaciens* α . — 1, sang de chenille de *P. brassicæ*; 2, sang de *V. urticæ*; 3, sang de *V. polychloros*.
- FIG. 23. — *B. pieris liquefaciens* α . — 1, sang d'*E. chrysorrhœa*; 2, sang de *L. dispar*.
- FIG. 24. — *B. melolonthæ liquefaciens* γ . — 1, sang d'*E. chrysorrhœa*; 2, sang d'*A. segetum*; 8, sang de *L. dispar*.
- FIG. 25. — *B. lymantricola adiposus*. — 1, sang de *L. dispar*; 2, sang de Ver à soie.
- FIG. 26. — *B. liparis*. — 1, Bacilles jeunes dans le sang de chenilles de *L. dispar*; 2, Bacilles plus âgés dans le sang des mêmes chenilles en état d'infection avancée. (Comparer avec Bacilles diptériques longs et courts.)
- FIG. 27. — Formes de croissance de *B. liparis* (culture sur gélose-ascite).
- FIG. 28. — Formes d'involution du Bacille diptérique.
- FIG. 29. — Formes de croissance du *B. liparis* dans le sang de chenilles de *P. brassicæ* (étuve 27° — 16 heures après l'inoculation.)
- FIG. 30. — Formes de croissance du *B. lymantricola adiposus* dans le sang de chenilles de *L. dispar* (en 1918).
- FIG. 31. — Formes de croissance du *B. lymantricola adiposus* en voie de développement.
- FIG. 32. — Cellules bactériennes de *B. maximus buccalis* (1-3) et de *Spirillum giganteum* (4-5). (D'après Swellengrebell.)
- FIG. 33. — Structure de la cellule bactérienne (d'après Amato).
- FIG. 34. — Structure de *B. anthracis* (d'après Pénau).
- FIG. 35. — Structure de quelques Bacilles et Microcoques du tube intestinal de *Bufo melanostulus*, *Lacerta muralis*, *Triton vulgaris* (d'après Dobell).
- FIG. 36. — Formes normales de début de *B. pieris non liquefaciens* α dans le sang de chenilles de *L. dispar*.
- FIG. 37. — Formes de début de *B. melolonthæ liquefaciens* γ , dans le sang de chenilles de *L. dispar*.

- FIG. 38. — Structure de *B. hoplosternus*. Culture de 7 heures sur gélose ordinaire; coloration au Giemsa.
- FIG. 39. — Spores de *B. hoplosternus* en voie de germination; culture de 4 heures sur gélose; coloration au Giemsa.
- FIG. 40. — *B. hoplosternus*; Bacille asporogène; coloration vitale au bleu de méthylène.
- FIG. 41. — *Diplococcus bombycis* dans le sang de chenilles d'*E. chrysorrhœa*.
- FIG. 42. — *B. lymantricola adiposus*. Sang d'*A. segetum*, 13 heures après l'inoculation.
- FIG. 43. — *B. melolonthæ liquefaciens* γ . Formes de croissance dans le sang de *L. dispar*, 10 heures après l'inoculation.
- FIG. 44. — *B. melolonthæ liquefaciens* γ . Masses géantes dans le sang de *L. dispar*, 15 heures après l'inoculation.
- FIG. 45. — *B. pieris liquefaciens* α . Formes de croissance dans le sang de *L. dispar*.
- FIG. 46. — *B. pieris liquefaciens* α . Masses géantes dans le sang de *L. dispar*, 17 heures après l'inoculation.
- FIG. 47. — *B. lymantricola adiposus*. Formes géantes dans le sang d'*A. segetum*, 23 heures après l'inoculation.
- FIG. 48. — *B. lymantricola adiposus*. Eléments bacilliformes avec grains métachromatiques.
- FIG. 49. — *B. lymantricola adiposus*. Masses géantes avec grains métachromatiques.
- FIG. 50. — Courbe représentant les variations de la virulence du *B. melolonthæ liquefaciens* α pour les chenilles d'*E. chrysorrhœa*, à la suite de passages successifs par l'organisme de ces chenilles.
- FIG. 51. — Courbe représentant les variations de la virulence du *B. lymantricola adiposus* pour les chenilles de *L. dispar*.
- FIG. 52. — Courbe représentant les variations de la virulence du *B. lymantricola adiposus* pour les chenilles d'*E. chrysorrhœa*.
- FIG. 53. — Courbe représentant les variations de la virulence du *B. lymantriæ* β pour les chenilles de *L. dispar*.
- FIG. 54. — Courbe représentant les variations de la virulence du *C. acridiorum* pour le Criquet pélerin. (D'après d'Hérelle.)
- FIG. 55. — Courbe représentant les variations de la virulence du *C. acridiorum* pour le Criquet marocain. (D'après Vélú et Bouin.)
- FIG. 56. — Coupe dans le tissu adipeux d'une chenille de *L. dispar* infestée par le *B. lymantricola adiposus*.
- FIG. 57. — Formation des inclusions cytoplasmiques dans les micronucléocytes des chenilles d'*E. chrysorrhœa* infestées par *B. melolonthæ liq.* γ .
- FIG. 58. — Micronucléocytes de sang de Livrée (*Malacosoma neustria*), 8 heures après l'inoculation de *B. melolonthæ liquefaciens* γ .
- FIG. 59. — Cytologie du sang de Hanneton ordinaire.
- FIG. 60. — Cytologie du sang de larve d'Elatéride.
- FIG. 61. — Micronucléocytes de chenille d'*E. chrysorrhœa*, 40 minutes après l'inoculation d'une émulsion chauffée de *B. liparis*.
- FIG. 62. — Micronucléocytes de chenille d'*E. chrysorrhœa*, 5 heures après l'inoculation d'une émulsion chauffée de *B. liparis*.
- FIG. 63. — Phagocytose du *B. melolonthæ non liquefaciens* α par les éléments du sang d'*E. chrysorrhœa*, 24 heures après l'inoculation; Microbes en amas dans le cytoplasme et souvent au milieu de vacuoles; Macronucléocytes avec Bacilles intraprotoplasmiques.
- FIG. 64. — Cénocytoïde de chenille de *P. brassicæ* et macronucléocyte en voie de mitose, avec *B. liparis* intraprotoplasmiques, 22 heures après l'inoculation.
- FIG. 65. — Micronucléocytes de chenille d'*E. chrysorrhœa* en voie de division caryocinétique, avec Bacilles intraprotoplasmiques, 5 heures après l'inoculation d'une émulsion chauffée de *B. liparis*.
- FIG. 66. — *B. melolonthæ non liquefaciens* ϵ ; sang de chenille d'*A. segetum*, 5 heures après l'inoculation.

- FIG. 67. — Micronucléocytes de chenille d'*A. segetum*, 2 minutes après l'inoculation avec *B. melolonthæ non liquefaciens* ϵ (septième inoculation).
- FIG. 68. — Sang de chenille d'*A. segetum* infestée par *B. melolonthæ non liquefaciens* ϵ ; a, 29 h. 1/2 après l'inoculation, température 9°; b, 3 h. 1/2 après la mise à l'étuve à 24°.
- FIG. 69. — Sang de *L. dispar* infestée par *B. pieris non liquefaciens* α ; a, 15 minutes après l'inoculation; b, 1 heure après.
- FIG. 70. — Eléments de *B. pieris non liquefaciens* α très fortement grossis, 1 heure après l'inoculation.
- FIG. 71. — *B. pieris non liquefaciens* α ; 3 heures après l'inoculation.
- FIG. 72. — *B. pieris non liquefaciens* α ; 5 h. 1/2 après l'inoculation.
- FIG. 73. — Micronucléocyte de chenille de *L. dispar* avec Bacilles et masses géantes intraprotoplasmiques; 5 h. 1/2 après l'inoculation avec *B. pieris non liquefaciens* α .
- FIG. 74. — *B. pieris non liquefaciens* α ; masses géantes dans le sang de *L. dispar*, 17 heures après l'inoculation.
- FIG. 75. — *B. pieris non liquefaciens* α ; 1, 3 heures après la réinoculation (chenille de *L. dispar*); 2, 5 heures après la réinoculation.
- FIG. 76. — *B. bombycis non liquefaciens*; sang de chenille de *L. dispar*, 7 heures après l'inoculation.
- FIG. 77. — *B. bombycis non liquefaciens*; micronucléocytes de *L. dispar* avec Bacilles et masses géantes intraprotoplasmiques.
- FIG. 78. — *B. bombycis non liquefaciens*; masses géantes dans le sang de *L. dispar*, 13 h. 1/2 après l'inoculation.
- FIG. 79. — *B. bombycis non liquefaciens*; masses géantes dans le sang de *L. dispar*, 31 heures après l'inoculation.
- FIG. 80. — *B. melolonthæ liquefaciens* γ ; sang de *L. dispar*; a, 4 heures après l'inoculation; b, 9 heures après l'inoculation.
- FIG. 81. — *B. melolonthæ liquefaciens* γ ; sang de *L. dispar*; a, 9 heures après l'inoculation; b, 10 heures après l'inoculation.
- FIG. 82. — *B. melolonthæ liquefaciens* γ ; sang de *L. dispar*, 24 heures après l'inoculation.
- FIG. 83. — *B. melolonthæ liquefaciens* γ ; micronucléocytes de chenille de *L. dispar* en voie de destruction après inoculation de Bacilles dans la cavité générale.
- FIG. 84. — Noyaux de cellules sanguines de *L. dispar*, en pycnose, après inoculation de *B. melolonthæ liquefaciens* γ .
- FIG. 85. — *B. proteidis*; sang de *V. polychloros*; 1, 5 minutes après l'inoculation; 2, 5 heures après l'inoculation.
- FIG. 86. — Phagocytose de *Diplococcus liparis* par les éléments du sang d'*E. chrysorrhæa*; a, noyau de micronucléocyte en voie de destruction.
- FIG. 87. — *Diplococcus bombycis*; 1, 10 minutes après l'inoculation dans la cavité générale de chenille d'*E. chrysorrhæa*; 2, 5 heures après.
- FIG. 88. — *Bacillus bombycis non liquefaciens*; 1, 20 h. 1/2 après l'inoculation dans la cavité générale d'une chenille d'*E. chrysorrhæa*; 2, 25 h. 1/2 après.
- FIG. 89. — *B. bombycis non liquefaciens*; 43 heures après l'inoculation dans la cavité générale d'une chenille d'*E. chrysorrhæa*.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE I

Éléments du sang des chenilles d' « *Euproctis chrysorrhœa* ».

- FIG. 1-12. — Micronucléocytes. — 4-6 : éléments avec inclusions cytoplasmiques éosinophiles; 7-10 : cellules à sphérules; 11-12 : cellules en état de caryocinèse.
- FIG. 13-23. — Macronucléocytes. — 13-15 : éléments arrondis en repos; 16 : élément à double noyau; 17-19 : éléments en forme de fuseau; 20-23 : macronucléocytes à différents stades de caryocinèse; 24-27 : Cénocytoides.

PLANCHE II

Éléments du sang des chenilles de « *Pieris brassicæ* ».

- FIG. 1-10. — Micronucléocytes. — 1-3 : éléments simples; 4-6 : éléments en état de caryocinèse; 7-10 : micronucléocytes avec inclusions éosinophiles; 11-16 : macronucléocytes; 11 : état de repos; 12-13 : éléments en forme de fuseau; 15 : éléments à deux noyaux; 16-18 : éléments en état de caryocinèse; 19-22 : Cénocytoides; 20-21 : éléments en état de caryocinèse.

PLANCHES III-VIII

- FIG. 1. — *Bac. pieris liquefaciens* α. Formes filamenteuses observées dans le sang de chenilles de *Lymantria dispar*.
- FIG. 2-3. — *Bac. lymantricola adiposus*. Formes de croissance observées dans le sang de chenilles de *L. dispar*. En même temps que les formes de croissance, on trouve quelques Coccobacilles normaux.
- FIG. 4-7. — *B. melolonthæ liquefaciens* γ. Phases différentes de la transformation des Bacilles normaux en formes de croissance arrondies. Dans la fig. 7, on observe une forme arrondie isolée avec partie centrale différenciée.
- FIG. 8-10. — Réaction observée dans les micronucléocytes de certaines chenilles après inoculation du *B. melolonthæ liquefaciens* γ. 8 : micronucléocyte d'*E. chrysorrhœa*, 2 heures après l'inoculation; 9 : mêmes éléments, 9 heures après l'inoculation; 10 : Sang de *Malacosoma neustria*, 12 heures après l'inoculation.
- FIG. 11-17. — Différentes phases du processus caryocinétique observées dans les macronucléocytes du sang de chenilles de *L. dispar*. Le stade représenté dans la fig. 16 paraît anormal : il suit immédiatement le stade représenté par la bande équatoriale ou peut-être, le premier stade; normalement, la bande équatoriale se divise longitudinalement en deux bandes qui s'éloignent l'une de l'autre (15).
- FIG. 18. — Réaction de caryocinétose observée dans le sang d'*E. chrysorrhœa*, 48 heures après l'inoculation d'une culture chauffée de *B. melolonthæ non liquefaciens* γ.
- FIG. 19. — Sang de chenille d'*E. chrysorrhœa*, 50 heures après l'inoculation de *Bac. liparis*. La figure représente un macronucléocyte et un micronucléocyte en voie de mitose, ce dernier, avec Bacilles intracytoplasmiques.
- FIG. 20. — Phagocytose de *Diplococcus liparis* par un micronucléocyte de *L. dispar*.
- FIG. 21. — *Bac. hoplosternus* dans le sang de *L. dispar*.
- FIG. 22-30. — Réactions humorales et cellulaires observées dans le sang de chenilles d'*Agrotis segetum* après inoculation de *B. melolonthæ non liquefaciens* ε; 22 : Bacilles encapsulés, peu avant la transformation en granules (coloration au Giemsa); 23 : transformation en granules à l'intérieur des capsules (coloration au violet de métyle); 24 : Phagocytose de capsules et de Bacilles normaux par un micronucléocyte; 25 : sang de chenille d'*A. segetum* inoculée depuis 24 heures

et maintenue à la température de 5°; 26 : sang de la même chenille, 40 minutes après la mise à l'étuve à 24°; 27 : après 3 heures; 28 : après 3 h. 1/2; 29 : après 4 heures; 30 : après 5 heures.

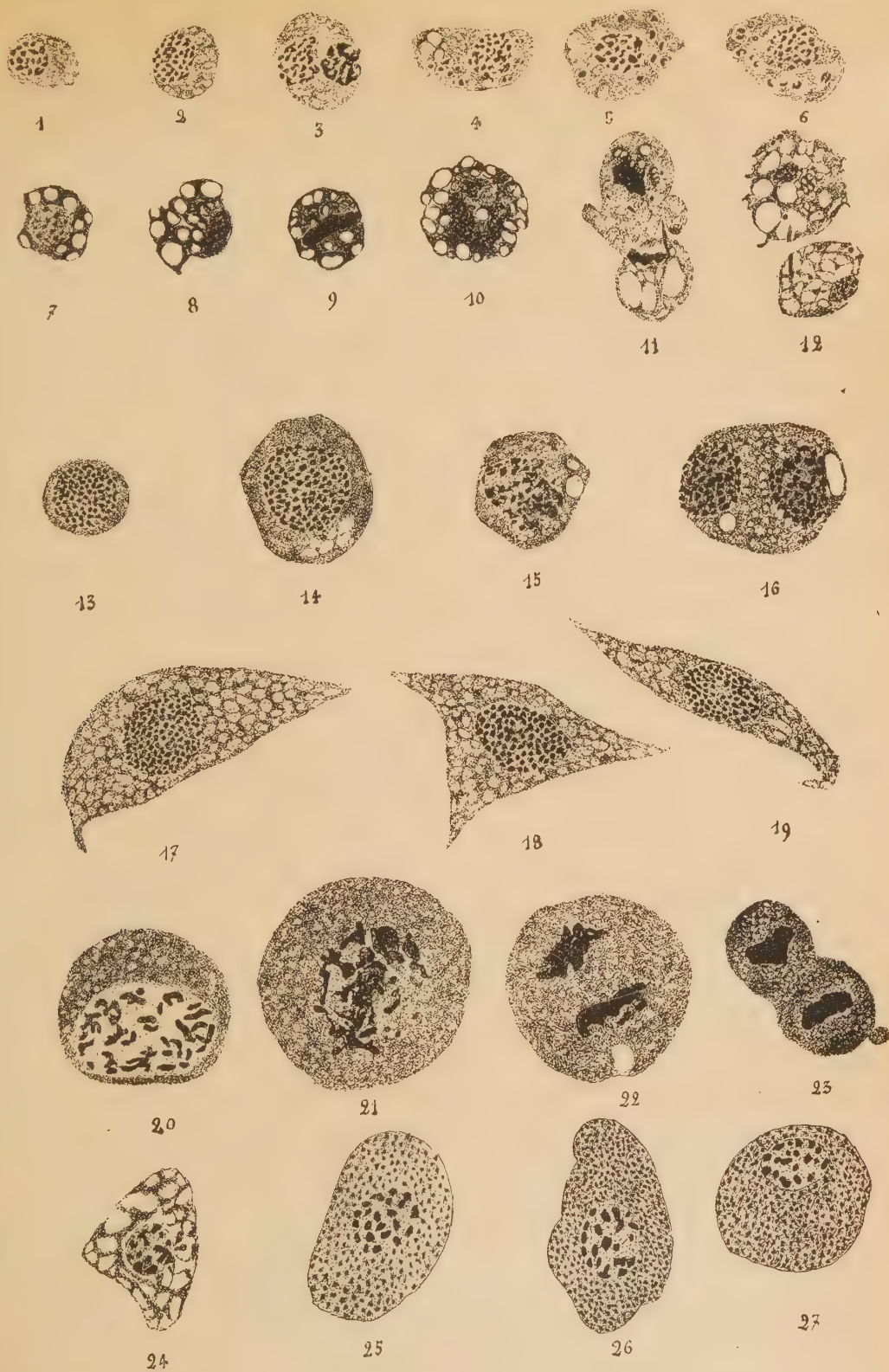
FIG. 31-34. — *B. pieris non liquefaciens* α; Réactions humorales et cellulaires observées dans le sang des chenilles de *L. dispar*; 31 : 1 heure après l'inoculation; 32 : 8 heures après; 33 : 24 heures après; 34 : Sang de chenille de *L. dispar*, 28 heures après l'inoculation.

FIG. 35. — *B. melolonthæ non liquefaciens* α; transformation en granules et phagocytose des granules dans le sang de chenilles d'*A. pronubana* en état d'immunité, 30 minutes après l'inoculation.

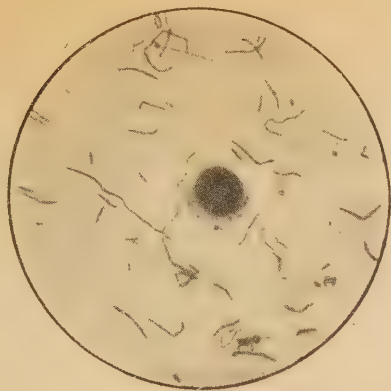
FIG. 36. — *B. melolonthæ liquefaciens* γ; transformation en masses arrondies dans le sang de *L. dispar*, 15 heures après l'inoculation.

FIG. 37. — *B. melolonthæ non liquefaciens* γ; passage par chenille d'*E. chrysorrhœa*; 24 heures après l'inoculation; rares granules extracellulaires, assez nombreux granules phagocytés.

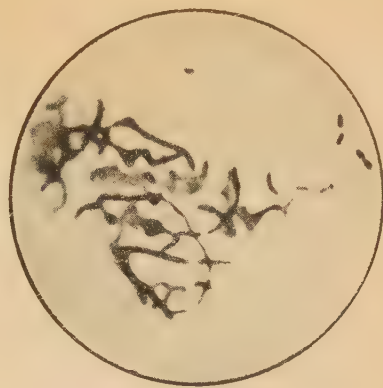
FIG. 38-40. — *Bac. proteidis*; Bactériolyse dans le sang de *Vanessa polychloros*; 38 : 5 minutes après l'inoculation; 39 : 4 h. 1/2 après; 40 : 5 heures après.



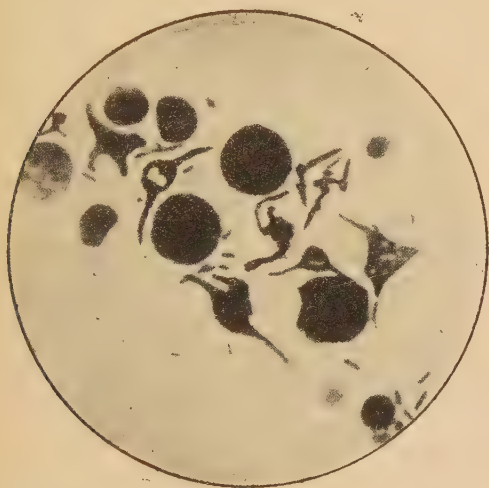




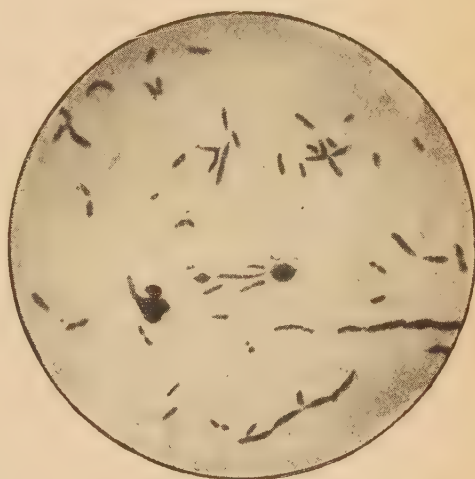
1



3



2



6



5

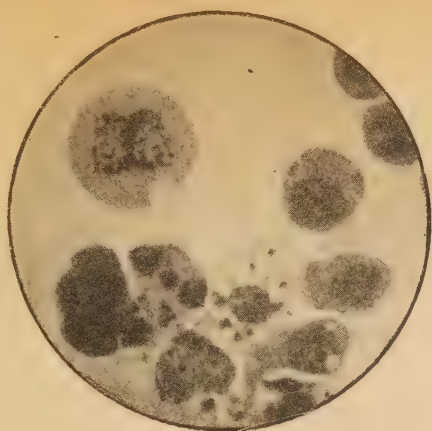


4

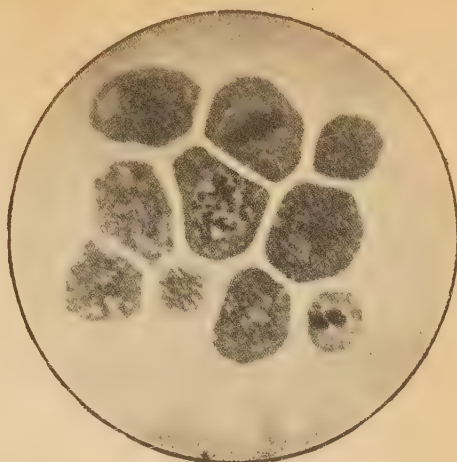


7

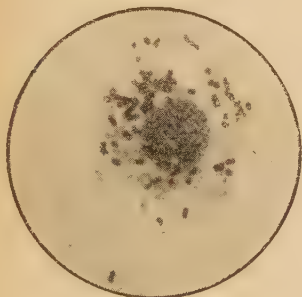




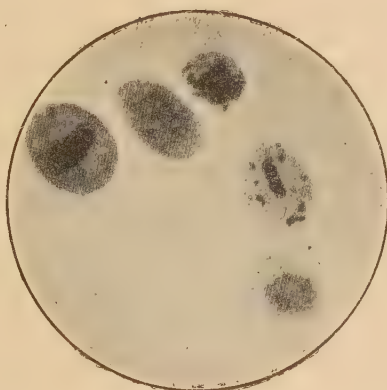
16



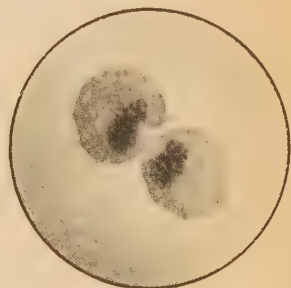
18



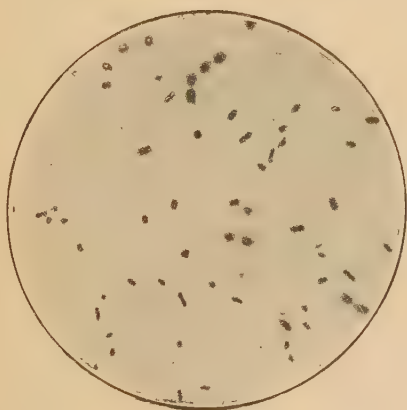
20



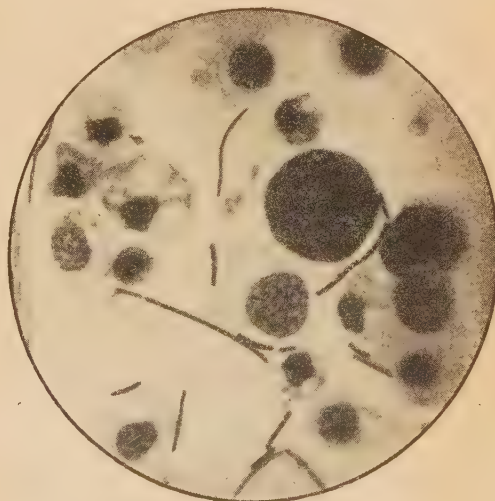
19



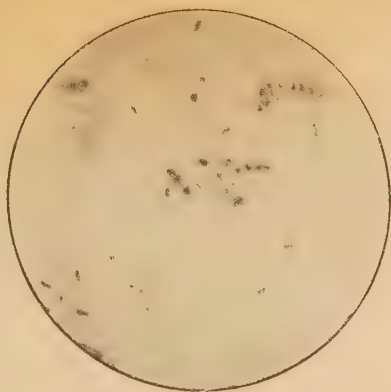
17



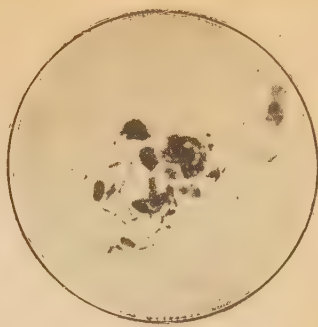
22



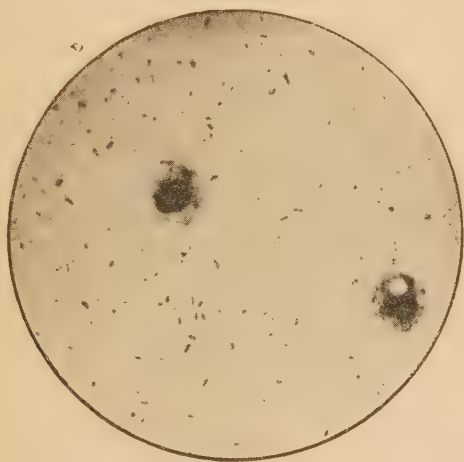
21



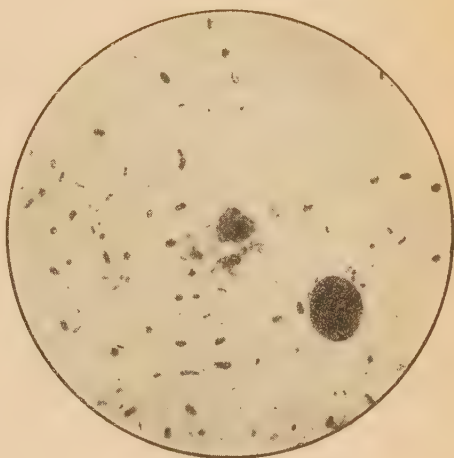
23



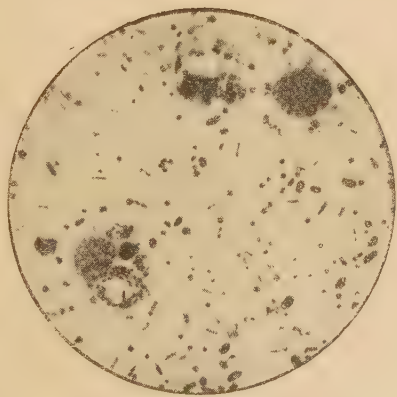
24



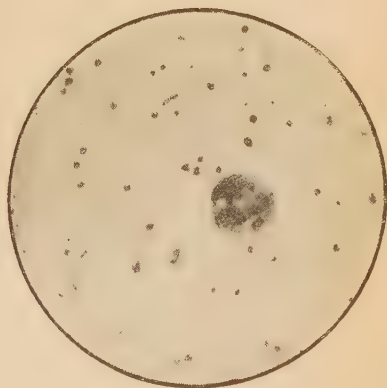
25



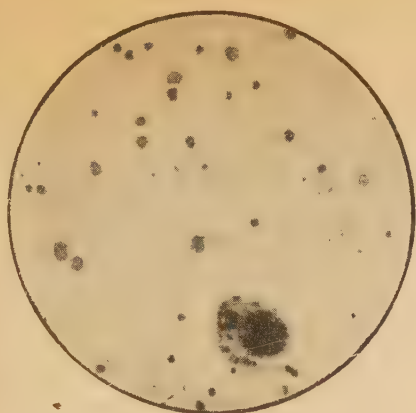
26



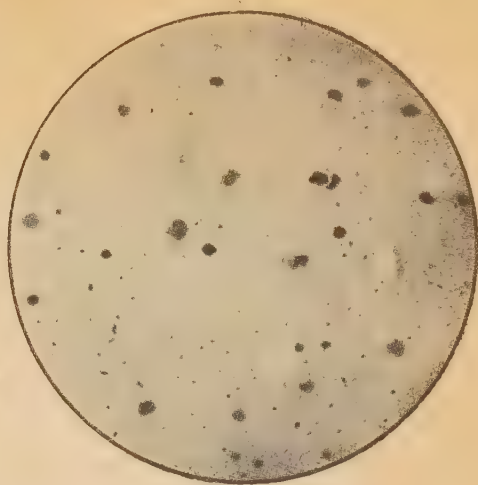
27



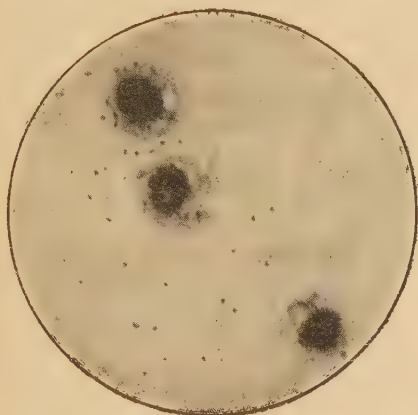
28



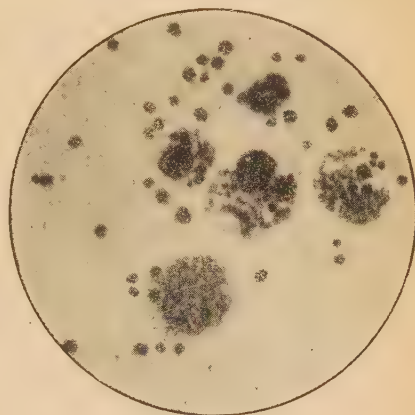
29



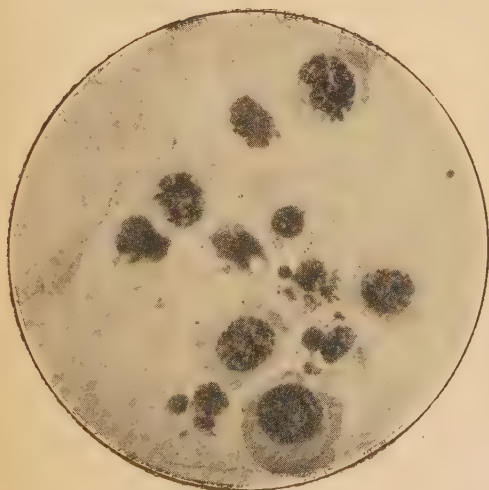
30



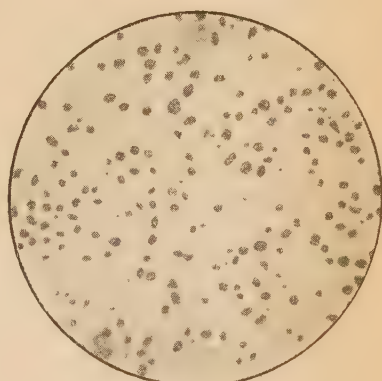
31



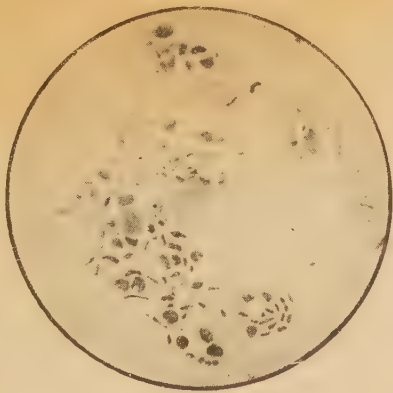
32



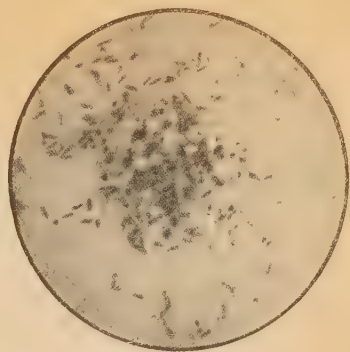
33



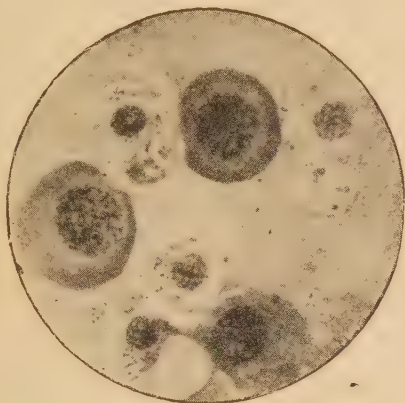
34



36



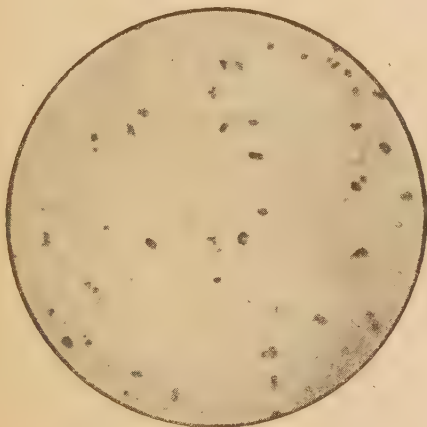
37



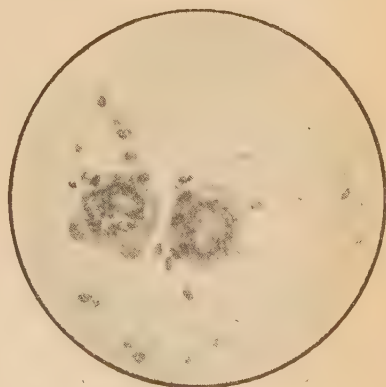
35



38



39



40

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

BOTANIQUE. — *Les travaux d'Er. SMITH sur les Cancers végétaux.*

GÉOLOGIE — *La Tectonique du Jura.*

Vu et approuvé,

Paris, le 30 Avril 1922.

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES :
N. MOLLIARD

Vu et permis d'imprimer,

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS

P. APPELL

